George Thayil

VERHALTEN DES ALDOSTERONS UND SEINER VORSTUFEN UNTER STIMULATIONS- SOWIE SUPPRESSIONSBEDINGUNGEN BEI ESSENTIELLEN HYPERTONIKERN

Diss.
München
1983

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt
der Universität München

(Direktor : Prof. Dr. med. E. Buchborn)

VERHALTEN DES ALDOSTERONS UND SEINER VORSTUFEN UNTER STIMULATIONS- SOWIE SUPPRESSIONSBEDINGUNGEN BEI ESSENTIELLEN HYPERTONIKERN*

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
GEORGE THAYIL
aus Kerala/Indien

1983

*mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft,
Wi 548/1-4, Bonn.

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter	:	Prof. Dr. P.C. Weber
Mitberichterstatter	:	Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan	:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 20.10.1983

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Meiner lieben Frau Subha

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

A. EINLEITUNG 5

B. STAND DER FORSCHUNG 9

I) Chemie des Aldosteron 9
II) Biosynthese des Aldosteron 12
III) Sekretion und Metabolismus des Aldosteron 14
IV) Wirkung des Aldosteron 16
V) Regulation der Aldosteronfreisetzung 18

C. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT 21

D. VERSUCHSANORDNUNGEN 22

a) Stimulationsversuch mit Furosemid 22

I. Probanden 22
II. Vorbereitung der Probanden zur Untersuchung 22

b) Suppressionsversuch mit isotoner Kochsalzbelastung 23

I. Probanden 23
II. Vorbereitung der Probanden zur Untersuchung 23

E. METHODIK 24

I. Allgemeine Prinzipien des Radioimmunoassays 24

a) Eigenschaften der radioaktiven Antigene 26

Seite

II. Radioimmunologische Bestimmung des Aldosteron und seiner Vorstufen 26

a) Chemikalien und radioaktive Steroide 26

b) Immunisierung 27

b.1) Antiserumtiter 27

b.2) Spezifität und Kreuzreaktionen der Antiseren 28

b.3) Affinitätskonstante 29

c) Extraktion der Steroide 29

d) Chromatographie 29

e) Elution 30

f) Radioimmunoassay 31

f.1) Ansatz und Eichkurve 31

f.2) Qualitätskontrolle des Radioimmunoassay 33

f.2.1) Präzision 33

f.2.2) Richtigkeit 33

f.2.3) Blank 34

III. Radioimmunologische Bestimmung der Plasmareninaktivität 34

IV. Statistische Methoden 35

F. ERGEBNISSE 36

1) Methodik 36

1.1) Antiseren 36

1.2) Extraktion und Chromatographie 36

1.3) Radioimmunoassay 37

1.3.1) Präzision 37

1.3.2) Richtigkeit 37

1.3.3) Blank 37

Seite

2) Untersuchungen an normotensiven Probanden und Patienten mit essentieller Hypertonie 48

2.1) Aldosteron und seine Vorstufen nach Furosemid i.v. 48

2.1.1) Allgemeine Parameter 48

2.1.2) Plasmareninaktivität 49

2.1.3) Plasmaaldosteron 49

2.1.4) 18-Hydroxycorticosteron 49

2.1.5) 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron 50

2.2) Aldosteron und seine Vorstufen nach NaCl-Infusion 57

2.2.1) Allgemeine Parameter 57

2.2.2) Plasmareninaktivität 57

2.2.3) Plasmaaldosteron 58

2.2.4) 18-Hydroxycorticosteron 58

2.2.5) 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron 58

G. DISKUSSION 67

I. Methodik 67

II. Untersuchungen an normotensiven Probanden mit essentieller Hypertonie 71

a) Stimulationsversuch mit Furosemid 71

b) Suppressionsversuch mit isotoner Kochsalzbelastung 75

H. ZUSAMMENFASSUNG 77

I. LITERATURVERZEICHNIS 80

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A I	=	Angiotensin I
A II	=	Angiotensin II
A III	=	Angiotensin III
ACE	=	Angiotensin-converting Enzym
Ag	=	Antigen
Ak	=	Antikörper
ACTH	=	Adrenocorticotropes Hormon
Aldo	=	Aldosteron
B	=	Corticosteron
18-OH-B	=	18-Hydroxycorticosteron
18-OH-DOC	=	18-Hydroxydesoxycorticosteron
DOC	=	Desoxycorticosteron
EH	=	Essentielle Hypertonie/Hypertoniker
HREH	=	Essentielle High-renin-Hypertonie
NREH	=	Essentielle Normal-renin-Hypertonie
LREH	=	Essentielle Low-renin-Hypertonie
NP	=	Normalpersonen
PG	=	Prostaglandin
PRA	=	Plasmareninaktivität
RAS	=	Renin-Angiotensin-System
RIA	=	Radioimmunoassay
SD	=	Standardabweichung
$\bar{x}$	=	Mittelwert

A. EINLEITUNG

Die arterielle Hypertonie tritt in westlichen Zivilisationen zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr in etwa 20 % und zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr bei ca. 35 % der Bevölkerung auf (33, 92, 106). Bei der Gesamtbevölkerung ist mit einer Häufigkeit von ca. 10 % zu rechnen (33). Circa 50 % dieser Patienten wissen nichts von der Existenz ihres erhöhten Blutdrucks. Obwohl bei einem weiteren Viertel der Hypertoniker der erhöhte Blutdruck bekannt ist, erfolgt dennoch keine ausreichende Behandlung (15, 34, 106).

Die Hypertonie und ihre Folgen zählen zu den häufigsten Ursachen von Invalidität und Tod, wobei der hohe Blutdruck einer der wichtigsten Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen ist (70, 123). Eine manifeste arterielle Hypertonie kann Arteriosklerose mit Schädigungen des Gefäßsystems, insbesondere am Herzen, im Gehirn und in den Nieren verursachen (49, 69). Hypertonie ist neben der Hypercholesterinämie und dem Nikotin einer der Hauptrisikofaktoren für die Arteriosklerose (89), woraus eine höhere Letalität an koronaren Herzkrankheiten und an Apoplexien resultiert (107). In Abbildung 1 werden die Komplikationen und Folgekrankheiten eines erhöhten Blutdruckes schematisch angegeben. Die aufgeführten Krankheitsbilder werden im Gefolge einer arteriellen Hypertonie sowohl durch eine Beschleunigung des Prozesses der Arterio- und Arteriolosklerose als auch durch die direkte mechanische Druckbelastung verursacht.

Als wichtigste Ursachen für die Entstehung der essentiellen Hypertonie werden hereditäre und umweltbedingte Faktoren diskutiert (127). Es darf angenommen werden, daß eine erbliche Anlage zur Hypertonie in der Bevölkerung

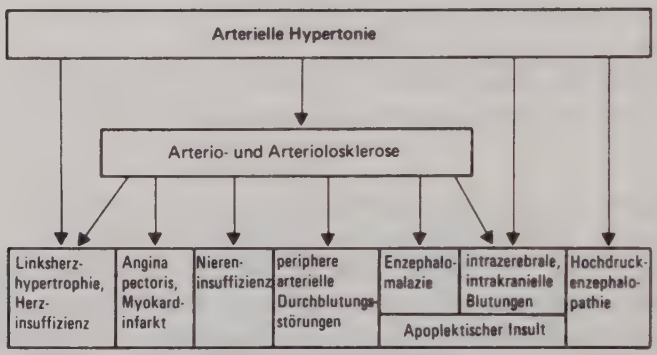


Abb. 1: Komplikationen und Folgekrankheiten der arteriellen Hypertonie (nach Lohmann, 69).

relativ häufig ist und daß Umwelteinflüsse, in Wechselwirkung mit den genetischen Faktoren, die Höhe des Blutdrucks entscheidend beeinflussen. Der genetische Anteil, der mit Hilfe der Zwillingsforschung (12) untersucht wurde, wird an der Einstellung der Blutdruckhöhe auf etwa 50 % geschätzt und die Anzahl der Gen Loci mit n = 13-15 angegeben (85). Zu den möglichen Umweltrisikofaktoren gehören nach heutigem Wissen erhöhter Kochsalzverbrauch, verminderte Kaliumzufuhr (82), Übergewicht, exzessiver Alkoholkonsum (109) und psychosozialer Streß (115). Der Rolle des Streß wird verschieden hohe Bedeutung zuerkannt (74), und es steht zur Diskussion, in welchem Ausmaß Entspannungstherapien den Blutdruck senken. Die altbekannte Tatsache, daß Emotionen oder geistige Arbeit den Blutdruck steigern können, besagt, daß auf diese Weise ein chronischer Hochdruck entstehen kann (115). Der mittlere Blutdruck steigt von Geburt an bis zum Alter von etwa 20 Jahren kontinuierlich an (59). Je niedriger der Salzkonsum, desto niedriger die Häufigkeit der Hypertonie und der Grad des Blutdruckanstiegs mit dem Alter (9). Abgesehen von Salzkonsum ist Übergewicht mit der Höhe des Blutdrucks und dessen Anstieg mit dem Alter eng verknüpft (20). Gewicht und Blutdruck sind schon im Jugendalter korreliert (67), und diese Beziehung stellt einen universalen Befund bei Erwachsenen dar (20 %). Es ist wohl bekannt, daß eine Einschränkung der Salzzufuhr und eine Gewichtsabnahme den Blutdruck senken können (50).

Die Hypertonie wird in primäre (essentielle) und sekundäre Hypertonieformen eingeteilt. Zu letzteren werden renal parachymatöse und renovaskuläre, endocrine und neurogene Hypertonien gerechnet. Dabei machen je nach Patientengut die primären Hypertonien etwa 90 % aus (45)

(siehe nächste Seite).

I. Primäre oder essentielle Hypertonie	ca. 90 %
II. Sekundäre Hypertonien	
1) renal-parenchymatös	ca. 4 %
2) renovaskulär	ca. 4 %
3) endocrin (Phäochromozytom, Conn- und Cushing-Syndrom)	ca. 1-2 %
4) Isthmusstenose der Aorta	ca. 0,1 %

Einteilung der verschiedenen Hypertonieformen nach aetiologischen Gesichtspunkten (45)

Die essentielle Hypertonie kann nach dem Reninverhalten der Patienten in eine 'High-renin-Hypertonie' (HREH), 'Normal-renin-Hypertonie' (NREH) und 'Low-renin-Hypertonie' (LREH) unterteilt werden. Die 'Low-renin-Hypertonie' kommt bei etwa 20 % der primären Hypertoniker vor. Eine Verwandtschaft der 'Low-renin-Hypertonie' mit primären Formen des Aldosteronismus wird diskutiert, obwohl unter basalen Bedingungen eine erhöhte Aldosteronsekretion bei Low-renin-Hypertonie ausgeschlossen werden konnte.

B. Stand der Forschung

I) Chemie des Aldosteron

Das wichtigste Mineralokortikoid Aldosteron wurde zum erstenmal 1953 von drei Arbeitsgruppen in England und in der Schweiz in kristalliner Form isoliert und in seiner Wirkung beschrieben (103). 1954 erfolgte von den gleichen Arbeitsgruppen um Reichstein bereits die Strukturaufklärung des Aldosteron (104). Die Steroidhormone besitzen als Grundstruktur ein Sterangerüst (Cyclopentanoperhydrophenanthren), das aus drei Cyclohexanringen (Ring A, B und C) und einem Cyclopentanring (D) besteht. An den Kohlenstoffatomen 13 und 10 des Sterans (siehe Abb. unten) (120) ist je eine Methylgruppe angelagert, die die Kohlenstoffatome 18 und 19 des Steroids ergeben. Die meisten natürlich vorkommenden Steroide haben Hydroxylseitenketten und werden daher auch als Sterole bezeichnet. Aldosteron ist ein Molekül mit einem Sterangerüst, das eine Hydroxylgruppe in C-11 und eine Aldehydgruppe in C-18 Position enthält.

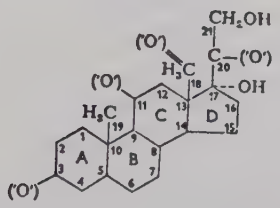


Abb. 2: Allgemeine Struktur der NNR-Steroide: Sterangerüst (120)

Es gibt in vitro mehrere tautomere Formen der Aldehydgruppe des Aldosteron, in vivo aber nur die Hemiacetal-Cyclohemiacetalform, die die Aldehydgruppe physiologisch vor Oxygenierung schützen.

Strukturformeln der an der Spätphase der Aldosteronbiosynthese beteiligten Steroide (siehe unten):

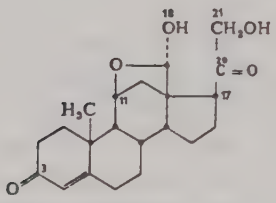


Abb. 3: Aldosteron (Cyklische Hemiacetal-Form) (11β, 21-Dihydroxy-4-pregnen-18-al-3,20-dion)

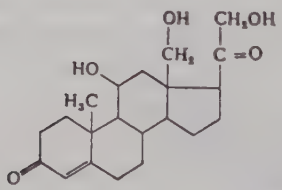


Abb. 4: 18-Hydroxycorticosteron (11β-18,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion)

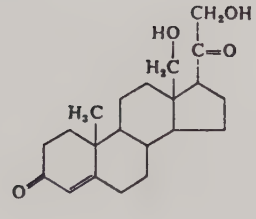


Abb. 5: 18-Hydroxy-11-desoxy-corticosteron (18,21-Didydroxy-4-pregnen-3,20-dion)

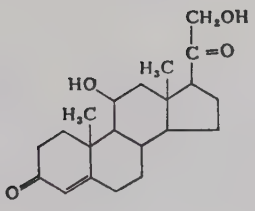


Abb. 6: Corticosteron (11β,21-Dihydroxy-4-pregnen-3, 20-dion)

II) Biosynthese des Aldosteron

Cholesterol ist die Ausgangssubstanz für alle Steroidhormone (Abb. 7). Die Nebennierenrinde enthält große Mengen Cholesterins. Die Synthese erfolgt in den Mitochondrien. Der Biosyntheseweg des Aldosteron beginnt mit dem Cholesterin, das aus Acetyl-CoA gebildet wird. Durch Seitenkettenabspaltung am Cholesterol geht es über das Pregnenolon zum Progesteron, die bereits ein C21-Steranggerüst besitzen. Bis einschließlich des Progesterons spricht man von der Frühphase der Aldosteronbiosynthese. Aus Progesteron wird 11-Desoxycorticosteron durch eine C21-Hydroxylase synthetisiert, von dem sich in einem Nebenzweig durch Einwirkung einer 18-β-Hydroxylase 18-Hydroxy-11-Desoxycorticosteron bildet. Durch Hydroxylierung in C 11-Position entsteht aus 11-Desoxycorticosteron Corticosteron, aus dem wiederum durch Einwirkung einer C18-Hydroxylase 18-Hydroxycorticosteron, der unmittelbare Vorläufer des Aldosteron, gebildet wird. Der letzte Syntheseschritt wird dann von einer Dehydrogenase in C18-Position ausgeführt, der die C18-Hydroxylgruppe des 18-Hydroxycorticosteron in die bereits oben beschriebene Aldehydgruppe transformiert. Vom 11-Desoxycorticosteron bis zum Aldosteron spricht man von der Spätphase der Aldosteronbiosynthese. Diejenigen Steroide mit einem zusätzlichen Hydroxyl- oder Ketorest in Position C 11 und Hydroxylrest in Position 17 zeigen eine vermehrte Glukokortikoid- und eine erniedrigte Mineralokortikoidwirkung.

Die Nebennierenrinde kann in drei unterschiedliche Strukturen eingeteilt werden: Zona reticularis, Zona fasciculata und Zona glomerulosa. Zellen der Zona glomerulosa sind exclusiv in der Lage, Aldosteron zu produzieren , können aber nicht die Endprodukte der Glukokortikoid-, Androgen- und Östrogenreihe synthetisieren.

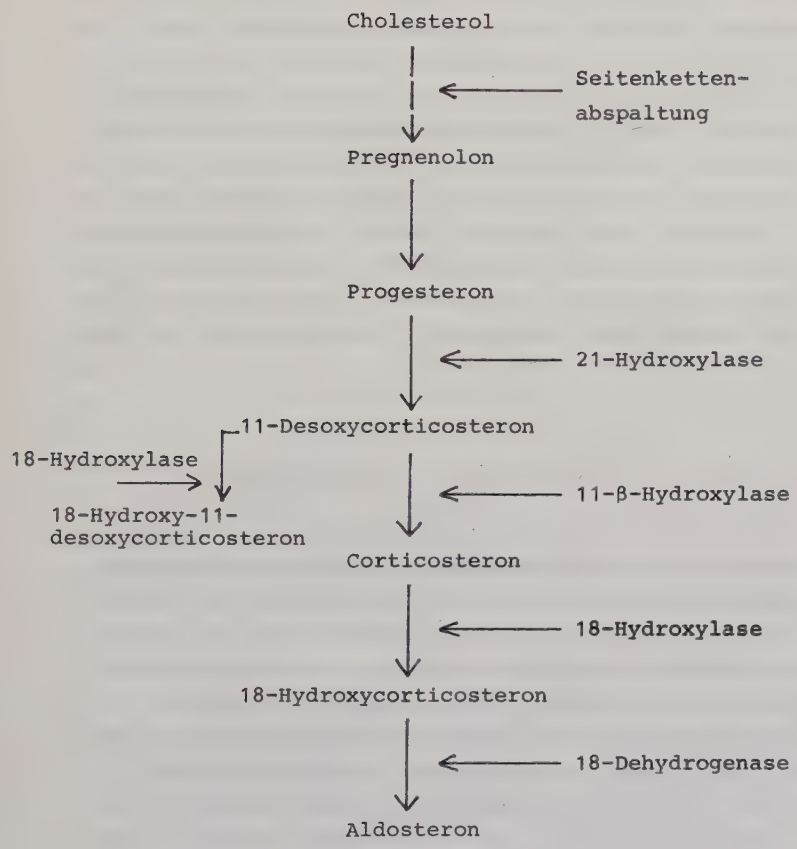


Abb. 7: Schematische Darstellung des Biosyntheseweges des Aldosteron (111)

Zellen der Zonae fasciculata und reticularis hingegen produzieren Cortisol, Testesteron und Östradiol, sind aber nicht zur Aldosteronsynthese fähig (8). Besonders deutlich wird der Unterschied der Steroidproduktion der drei verschiedenen Zelltypen unter Stimulationsbedingungen: Die Umsatzrate von Cholesterol zu Corticosteron ist invitro unter ACTH in den Fasciculatazellen 60 mal und in den Reticulariszellen 10 mal höher als in der Zona glomerulosa. Angiotensin II und Kalium hingegen stimulieren die Umsatzrate von Cholesterol zu Corticosteron 2-3 mal mehr in der Zona glomerulosa als in den Zonae fasciculata oder reticularis (111).

III) Sekretion und Metabolismus des Aldosteron

Die Sekretionsrate des Aldosteron bei Normalpersonen unter Ruhebedingungen beträgt 100-130 µg/Tag (111). Im Vergleich dazu werden täglich etwa 200 µg 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron sowie etwa 2000 µg Corticosteron sezerniert. Die Biosyntheseleistung der Nebennierenrinde ist mit ihrer Sekretionsrate streng korreliert, weil keine intrazellulären Speicherungen der Kortikoide in den Nebennierenzellen bekannt sind.

Bei Normalpersonen beträgt die metabolische Clearencerate des Aldosteron unter Ruhebedingungen etwa 2000 l/Tag (71). Sie ist bei Patienten mit essentieller Hypertonie (71) auch bei essentieller Low-renin-Hypertonie (14) nicht signifikant verändert.

Der Abbau des Aldosteron vollzieht sich in der Leber und in den Nieren. Das Steroidgerüst wird in einer nichtfunktionsfähigen Form ausgeschieden. Der Abbau der Steroide

kommt in der Leber durch NADH- oder NADPH-abhängige Reduktion der Ketogruppen zustande. Die Reduktion der ungesättigten Ketogruppierung am C-3-Atom bewirkt bereits eine biologische Inaktivierung des Hormones. Als Glucuronsäureester in C-18-Stellung wird dann Aldosteron durch die Niere ausgeschieden. Von der Gesamtmenge des sezernierten Aldosteron wird 90 % im Harn ausgeschieden: Tetrahydroaldosteron-Glucoronid (ca. 80 %), Aldosteron-18-oxo-Glucuronid (ca. 15 %), unbekante Metabolite und freies Aldosteron (ca. 0,5 %) (120). In den Faeces werden aus der Gesamtmenge ca. 10 % als Tetrahydroaldosteron und als freies Aldosteron ausgeschieden (120). Von den freien und konjugierten Steroiden, die über die Galle in den Darm ausgeschieden werden, wird ein großer Teil über den enterohepatischen Kreislauf rückresorbiert.

Aldosteron besitzt nur eine kurze biologische Halbwertzeit (ca. 30 min) (112). Im Vergleich zum Cortisol (120 min) ist sie deutlich kürzer und erklärt sich aus der geringen Plasma-Proteinbildung des Aldosteron. Aldosteron ist überwiegend unspezifisch an Albumin und Erythrozyten (134) gebunden. Aus der unspezifischen Bindung an Corticosteroidbindendes Globulin wird es rasch durch Glukokortiokoide verdrängt. Ein geringerer Anteil des Plasmaaldosteron wird an ein spezifisches Trägerprotein mit hoher Affinität gebunden, das als Aldosteron-bindendes-Protein (ABG) beschrieben wird (93).

IV) Wirkung des Aldosteron

Aldosteron wird hoch spezifisch an Mineralokortikoidrezeptoren gebunden, die sich gelöst im Cytosol der Zellen des jeweiligen Zielorgans finden. Nach Diffusion des Aldosterons durch die Zellmembran geht es eine reversible Bindung mit diesem Cytosolrezeptor ein. Es erfolgt dann eine strukturelle Transformation des Steroid-Rezeptor-Komplexes, die eine Bindung mit dem Zellnucleolus am sogenannten Acceptor ermöglicht. Dies führt zur Transkription des genetischen Materials und die nun replizierte m-RNA bewirkt die Synthese spezifischer Proteine (AIP), die den gerichteten Membran-Transport von Elektrolyten beeinflussen (7). Diese Aldosteron-induzierten Proteine stimulieren wahrscheinlich die Substrat-Oxydation und damit die ATP-Synthese. Mineralokortikoidrezeptoren sind in der Niere, den Schweiß- und Speicheldrüsen, dem Colon sowie in den Leberzellen, den Fibroblasten und der glatten Muskulatur arterieller Gefäße nachweisbar (83).

Edelman et al. beschrieben als erste die stimulierende Wirkung des Aldosteron auf den Citronensäurecyclus (38, 38a). Es konnte dann später der spezifische stimulierende Effekt von Aldosteron auf die Aktivität mitochondrialer und cytoplasmatischer Enzyme nachgewiesen werden (62, 63). Die Aktivierung des Citratcyclus führt zur Bildung von energiereichen Phosphaten (ATP) sowie von Reduktionsäquivalenten (NADH, NADPH), die ihrerseits für den aldosteroninduzierten aktiven Transport von Kationen Verwendung finden.

Crabbé beschrieb im Jahre 1961, daß Aldosteron die Synthese einer Substanz stimuliert, die in den aktiven Natriumtransport beteiligt ist (24). Edelman (29) und Williamson (128) konnten im Jahre 1963 zeigen, daß es

spezifische Proteine sind, die über die Induktion von RNA synthetisiert werden. Die aldosteroninduzierten Proteine (AIP) nehmen offenbar eine Schlüsselstellung in der Vermittlung der Aldosteronwirkung ein, wobei diskutiert wird, ob sie a) direkt stimulierend auf die Na^+/K^+-ATPase und/oder deren Population an der Basalmembran (44), oder b) indirekt über die Stimulation des mitochondrialen Energiestoffwechsels (Citratcyclus (62, 63) bzw. c) über die Steigerung der Permeabilität des Natriums an der apicalen Membran beeinflussen (25). Nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnisse ist die Wirkung der aldosteroninduzierten Proteine (AIP) auf alle drei Mechanismen wahrscheinlich (30, 38).

Der Einfluß des Aldosteron auf den Lipidmetabolismus werden von einigen Autoren (43, 64, 133) beobachtet. Sie haben an adrenalektomierten Ratten nach Applikation von Aldosteron erhöhte Plasmaspiegel von freien Fettsäuren, eine gesteigerte lipolytische Aktivität des Fettgewebes und eine vermehrte Einbaurate von freien Fettsäuren in das Nierengewebe nachgewiesen (64). Goodman et al. konnten an der Krötenblase durch Aldosteron eine Stimulierung der endogenen Phospholipase A (43) und eine Steigerung des Gehaltes an polyungesättigten Fettsäuren in den Phospholipidmembranen nachweisen.

Nach dem derzeitigen Wissensstand (42, 55) reguliert Aldosteron die Kaliumaufnahme in die distale Tubuluszelle der Niere über eine Stimulation der energieabhängigen basalen Na^+/K^+Pumpe. Es erfolgt an dieser Stelle ein stöchiometrischer Austausch zwischen Kalium und Natrium, die beiden Ionentransporte sind offenbar über die Na^+/K^+ATPase aneinander gekoppelt. Zum anderen wird ein Einfluß des Aldosteron auf die passive Kaliumpermeabilität der luminalen Tubulusmembran diskutiert.

Es wird angenommen, daß Aldosteron die Sekretion von Säureäquivalenten im distalen Tubulus der Niere stimuliert (47). Ein Aldosteronexzess geht im allgemeinen mit einer metabolischen Alkalose (23) und ein Aldosteronmangel mit einer metabolischen Azidose (2) einher.

V) Regulation der Aldosteronfreisetzung

Laragh beschrieb im Jahre 1957 die Beeinflussung der Aldosteronsekretion durch Kalium (66). Tait et al. bewiesen durch Untersuchungen an isolierten Nebennierenrindenzellen den stimulierenden Effekt des Kaliums auf die Aldosteronsekretion (113). Kalium hat invitro sowohl eine stimulierende Wirkung auf die Frühphase der Aldosteronbiosynthese (Seitenkettenabspaltung des Cholesterol) als auch auf die Spätphase, wo es die 18-Hydroxylase beeinflußt (52). Invivo ist die Beeinflussung der Aldosteronbiosynthese durch Kalium noch weitgehend unklar. Schon bei geringfügigen Änderungen der Plasmakaliumkonzentration lassen sich deutliche Steigerungen der Aldosteronsekretion erzielen, wobei die Regulation der Aldosteronsekretion durch Kalium unabhängig vom Angiotension II erfolgt: Bei der Anpassung an das Körperkalium verändern sich Renin und Aldosteron in entgegengesetzter Richtung (27).

Gross und Davis postulierten zum erstenmal die Möglichkeit einer stimulierenden Wirkung von Angiotensin II auf die Aldosteronfreisetzung (26, 48). Später haben mehrere Forschungsgruppen an isolierten Glomerulosazellen die stimulierende Wirkung von Angiotensin II auf die Aldosteronsynthese bewiesen (13, 18, 52). Angiotensin II und III stimulieren beide sowohl Glomerulosa- wie Fasciculatazellen (53). Die Aldosteron stimulierende Potenz des

Angiotensin II ist beim Menschen mit dem des Angiotensin III vergleichbar. Angiotensin II hat eine stärkere vasokonstringierende Wirkung an den peripheren Widerstandsgefäßen im Vergleich zu A III. Diese beiden Peptidhormone können lokal im Nebennierenrindengewebe produziert werden (adrenales Renin-Angiotensin-System) (21). Angiotensin II stimuliert invitro sowohl die Frühphase (Seitenkettenabspaltung des Cholesteron) als auch die Spätphase (18-Hydroxylase) der Aldosteronproduktion (3, 80), wobei möglicherweise auch die Conversion von 18-Hydroxycorticosteron zu Aldosteron (18-Dehydrogenase) beeinflußt wird (94). Natriumrestriktion verursacht eine gesteigerte Empfindlichkeit der Aldosteronfreisetzung auf Angiotensin II-Infusion (88). Aldosteron wird bei Natrium- und Volumenentzug durch A II stimuliert.

Über eine direkte Einwirkung des Natriumions auf die Glomerulosazelle bestehen bisher keine Angaben. Versuche an Nebennierengewebe, das von natriumverarmten Tieren gewonnen wurde, zeigten zwar eine Steigerung der Aldosteronfreisetzung, die Natriumverarmung ging aber immer mit einer gleichzeitigen Erhöhung der Plasmakaliumkonzentration einher, so daß die Wirkungen der beiden Ionen auf die Aldosteronsynthese nicht voneinander getrennt werden konnten (40, 73, 78). Einerseits konnte bei invitro Experimenten mit Nebennieren durch Änderung der Natriumchloridkonzentration kein Effekt auf die Aldosteronproduktion nachgewiesen werden. Andererseits wurde an nephrektomierten Patienten während der Dialyse ohne Veränderung des Plasmakaliums und der Körperflüssigkeit durch Abnahme der Plasmanatriumkonzentration eine Zunahme der Plasmaaldosteronfreisetzung erzielt (78).

Das adrenocortcotrope Hormon (ACTH), ein Hypophysenhormon, stimuliert die Aldosteronbiosynthese durch die Ver-

mittlung von cAMP (60, 97, 99, 114). ACTH, als wichtigster Regulator der Glukokortikoidsynthese, stimuliert die Steroidsynthese in den Fasciculatazellen 60-fach und in den Reticulariszellen 10-fach stärker als in den Glomerulosazellen (105, 111). Dieses Hypophysenhormon beeinflußt sowohl die Frühphase als auch die Spätphase der Aldosteronbiosynthese. Catt et al (4) beschrieben, daß eine chronische ACTH-Applikation eine Abnahme der Aldosteronsekretion der Zona glomerulosa bewirkt und somit sekundär eine geringere Stimulation der Glomerulosazellen durch A II erfolgt. In letzter Zeit wurde intensiv nach weiteren hypophysären Faktoren, die die Aldosteronbiosynthese beeinflussen, geforscht. Dabei zeigte sich, daß α-MSH (melanozyten stimulierendes Hormon) (124) und ASF (Aldosteron stimulierender Faktor) (102) eine stimulierende, Enkephaline (90) eine hemmende und Prolactin (22) sowie β-Lipoprotein (125) keine Wirkung auf die Aldosteronbiosynthese haben.

Es konnte gezeigt werden, daß die Aldosteronsekretion des Menschen unter einer tonischen Hemmung durch Dopamin steht (16, 31), wobei der Angriffspunkt die 18-Hydrolase in der Spätphase der Aldosteronbiosynthese sein könnte. Metoclopramid, ein kompetitiver Dopaminantagonist, induziert einen Anstieg des Aldosteron, der durch Dopamin dosisabhängig hemmbar ist (17). Mit Hilfe von invitro Untersuchungen an isolierten Nebennierenrindenzellen konnte ein direkter hemmender Effekt des Dopamin (81) bzw. ein stimulierender Effekt des Metoclopramid (32) auf die Aldosteronsekretion gezeigt werden. Die stimulierende Wirkung von Serotonin und Histamin auf die Aldosteronbiosynthese invitro wurde in verschiedenen Studien beschrieben (5, 113). Serotonin wirkt offenbar nur auf die Zona Glomerulosa (52).

C. Fragestellung der Arbeit

In der vorliegenden Studie sollte das Verhalten des Plasmaaldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron bei essentiellen Hypertonikern im Vergleich zu normotensiven gesunden Probanden untersucht werden. Die Regulation wurde untersucht nach Gabe von Furosemid i.v. (akuter Natrium- und Volumenentzug) und unter Suppressionsbedingungen durch Zufuhr von Natrium und Volumen in Form isotoner Kochsalzinfusion.

D. VERSUCHSANORDNUNGEN

a) Stimulationsversuch mit Furosemid

I. Probanden

Zur Untersuchung kamen 16 essentielle Normal-renin-Hypertoniker (Alter: 37 ± 8 (SD)), 12 essentielle Low-renin-Hypertoniker (Alter: 40 ± 7 (SD)) und 20 Normotoniker (Alter: 35 ± 9 (SD)) (siehe Tab. 3). Von den Patienten hatte keiner eine maligne Hypertonie, Niereninsuffizienz oder eine Lebererkrankung.

II. Vorbereitung der Probanden zur Untersuchung

Alle Probanden wurden ambulant untersucht. Zwei Wochen vor Beginn der Studie wurden die Medikamente abgesetzt. Die Probanden nahmen ihre normale Kost zu sich. Vor Beginn der Studie wurde zur Kontrolle der Natrium- und Kaliumbilanz Urin an zwei aufeinander folgenden Tagen gesammelt. Die Versuche fanden von 8 Uhr bis 12 Uhr vormittags nach einer 12stündigen Nahrungskarenz statt. Um 10 Uhr, nach zweistündigem Liegen, wurde Blut als Kontrollwert entnommen. Danach wurden 40 mg Furosemid intravenös appliziert. 15 min später (im Liegen) und nach weiteren 105 min unter zusätzlicher aktiver Orthostase wurden Blutproben entnommen.

Als Low-renin-Hypertoniker wurden Patienten bezeichnet, bei denen die Plasmareninaktivität kleiner als 0,4 ng AI/ml.h in Ruhe und kleiner als 1,0 ng AI/ml.h 15 min oder 120 min nach Furosemidgabe war.

b) Suppressionsversuch mit isotoner Kochsalzbelastung

I. Probanden

Der Suppressionsversuch wurde mit dem gleichen Probandenkollektiv wie beim Stimulationsverusch durchgeführt.

II. Vorbereitung der Probanden zur Untersuchung

Nach zweistündiger Liegeperiode wurde allen Probanden über 4 Stunden eine isotone NaCl-Lösung von insgesamt 2 l (500 ml/h) infundiert. Plasma wurde unmittelbar vor Beginn (P0), 1 Std. nach Infusionsbeginn (P1) und am Ende der Infusion (P2) entnommen. Zur Kontrolle der Natrium-Kaliumbilanz wurde ein 24-Std-Urin am Vortag (U0), unter der Infusion (U1) und im Anschluß an die Infusion (U2) gesammelt.

Der Blutdruck wurde bei den Probanden mit der Standardsphygmomanometrie nach Riva-Rocci gemessen. Natrium, Kalium, Harnstoff-N und Kreatinin wurden mit Routinelabormethoden bestimmt.

E. METHODIK

I. Allgemeine Prinzipien des Radioimmunoassays

Die von Berson und Yalow (10) entwickelte Methode findet dort Anwendung, wo es gilt, sehr geringe Mengen von Hormonen zu bestimmen. Die Reaktion unterliegt dem Massenwirkungsgesetz und beruht auf einer Bindungsreaktion von Antigenen mit einem spezifischen Antikörper. In Abbildung 8 wird das Prinzip näher veranschaulicht.

Für das Standardbezugssystem wird eine bestimmte Menge radioaktiv markierten Antigens und antikörperhaltiger Lösung inkubiert, die 50 % der Antigenmenge binden kann (siehe Schema). Nach Trennung der Bestandteile lassen sich bei geeigneter AK-Konzentration 50 % des radioaktiven Antigens im Präzipitat und 50 % im Überstand nachweisen. Die Ag-Ak-Komplex-Trennung erfolgt durch Absorption des gebundenen Hormons an Dextran beschichtete Aktivkohle (120). Setzt man nun zu einer solchen Standardlösung eine unbekannte Menge an nicht markiertem Antigen zu, so kommt es zu einer Konkurrenzreaktion um die freien Ak-Bindungsstellen und ein Teil des nicht markierten Antigens wird anstelle von radioaktiv markiertem an die vorhandenen Antikörper gebunden. Nach Trennung und Zählung der Radioaktivität im Präzipitat läßt sich aus dem Verhalten von freiem zu gebundenem radioaktiv markierten Antigen die Menge des zu untersuchenden Antigens mit Hilfe einer Eichkurve bestimmen.

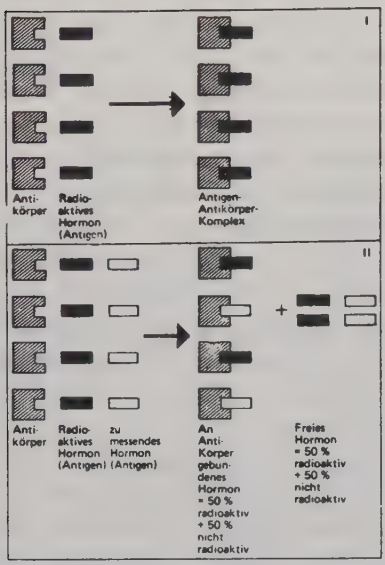


Abb. 8 : Prinzip der radioimmunologischen Hormonbestimmung: entnommen aus (91)

a) Eigenschaften der radioaktiven Antigene

Von der radioaktiven Substanz (Tracer) ist eine möglichst hohe spezifische Radioaktivität (= Zerfallsrate/Stoffmenge) zu fordern. Je höher die spezifische Radioaktivität der Substanz ist, desto weniger radioaktive Substanz muß man für den RIA verwenden und der Assay wird empfindlicher. Die spezifische Radioaktivität der markierten Antigene ist bestimmt von der Anzahl und Art der Isotopen, die in ein Molekül eingeführt werden. Es sollten nur radioaktive Substanzen verwendet werden, bei denen die Bindung des Isotops an die Grundsubstanz hinreichend stabil ist. Zur Markierung von Steroiden wird in erster Linie Tritium ^{3}H verwendet (84).

II. Radioimmunologische Bestimmung des Aldosteron und seiner Vorstufen

a) Chemikalien und radioaktive Steroide

Folgende Chemikalien wurden für die Analyse benutzt: Azeton, Benzol, Cyclohexan, Dichlormethan, Ethanol, Formamid, Isooctan, Isatin (2,3-dihydroindol-2,3-dione), Isopropanol, Methanol und n-Butanol wurden von Merck, Darmstadt (FRG) zugestellt. Alle Lösungsmittel waren hochgereinigt.

18-Hydroxy-11-deoxy (1,2-^{3}H)-Corticosteron (spezifische Radioaktivität: 1,8 TBq/mmol, 51 Ci/mmol., 1000 counts/min = 2,8 pg), 18-Hydroxy-(1,2 (n)- H)-Corticosteron (1,1 TBq(mmol, 32 Ci/mmol, 1000 counts/min = 7,4 pg), 11-Deoxy-(1,2 (n)-^{3}H)-Corticosteron (1,2 TBq/mmol, 35 Ci/mmol., 1000 counts/min = 5,0 pg) und (1,26,7 (n)-^{3}H)-

Aldosteron (3,7 TBq/mmol, 102 Ci/mmol., 1000 counts/min = 2,2 pg) wurden von Amersham Buchler, Braunschweig (FRG) bezogen. (1,2,6,7 (n)-^{3}H)-Corticosteron (3,0 TBq/mmol, 82,1 Ci/mmol., 1000 counts/min = 3,5 pg) wurde von NEN, Langen (FRG) zugestellt. Alle radioaktiven Chemikalien wurden vor den Analysen über Dünnschichtchromatographie gereinigt.

b) Immunisierung

Die verschiedenen Steroidantigene für die Immunisierung wurden nach der von Erlanger et al. (35) beschriebenen Methode synthetisiert. Als Antigene wurden Aldosteron-21-hemisuccinat-Bovinserumalbumin (BSA), Corticosteron-21-hemisuccinat-BSA, 18-Hydroxy-Corticosteron-3-Oxim-BSA verwendet. Die Immunisierung wurde an weißen Neuseeland-Kaninchen vorgenommen. Zur Stimulierung der Immunisierungsreaktion wurde das Antigen zusammen mit Freund'schem Adjuvans injiziert. 3 mg Antigen wurde in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung und 0,5 ml komplettem Freund'schen Adjuvans homogenisiert. Die erste Boosterung erfolgte 1 Woche später mit 1 mg Antigen. Die weiteren Boosterungen wurden dann in 3wöchigen Intervallen mit je 1 mg Antigen durchgeführt. Die eine Hälfte der Injektionen erfolgte intramuskulär und die andere Hälfte intradermal.

b.1) Antiserumtiter

Die Höhe des Antiserumtiters ist definiert als Verdünnung eines Antiserums, die 50 % der zu den Inkubationssystem gegebene Radioaktivität binden kann (120). Es wur-

de jeweils eine Verdünnungsreihe des Antiserums von 1:100 bis 1:100000 mit γ-Globulin-Tris-Puffer hergestellt. In die Reaktionsröhrchen wurden 100 µl radioaktiven Aldosterons (Arbeitslösung ca. 4000-5000 cpm), 300 µl Puffer und 100 µl der entsprechenden Antiserumverdünnung pipettiert und über Nacht bei 4° C inkubiert.

b.2) Spezifität und Kreuzreaktionen der Antiseren

Unter Kreuzreaktion eines Antikörpers versteht man seine Bindung mit Substanzen, die eine ähnliche Struktur aufweisen, wie das Antigen selbst (1). Bei der radioimmunologischen Bestimmung des Aldosteron kommt der Kreuzreaktion besondere Bedeutung zu, da die Corticosteroide, welche kreuzreagieren, häufig in höherer Konzentration vorliegen als das Aldosteron selbst. Die Spezifität der Antiseren wurde mit mehr als 10 biologisch relevanten Steroiden oder deren Metaboliten getestet. Die untersuchten kreuzreagierenden Steroide wurden mehrmals auskristallisiert und über Phosphorpentoxid im Vakuum getrocknet. Es wurden Steroidkonzentrationen von 10 bis 100000 pg/ml getestet. In die Reagenzröhrchen wurde zuerst 100 µl der entsprechenden Steroidkonzentration zugegeben, weitere 200 µl Puffer, 100 µl radioaktives Hormon (Arbeitslösung) und zum Schluß 100 µl Antikörper (Endverdünnung 1:125000). Die Berechnung der Kreuzreaktion wurde nach der folgenden Gleichung durchgeführt:

$$\text{Kreuzreaktion in \%} = \frac{x}{y} \times 100$$

x = pg Steroid bei 50 % Bindung

y = pg des kreuzreagierenden Steroids bei 50 % Bindung

b.3) Affinitätskonstante

Die Affinitätskonstante wurde anhand der Eichkurven der verschiedenen Antiseren nach den Methoden von Nisonoff und Scatchard (87, 98) berechnet.

c) Extraktion der Steroide

In 100 ml Scheidetrichter werden je 1 ml Plasma pipettiert. Zu dem Plasma wurden je 10 µl 8000 cpm 18-Hydroxycorticosteron, Aldosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron gegeben. 10 µl aller Steroide wurden in Szintillationsfläschchen als Ausgangsradioaktivität gegeben. 40 ml bei 4° C gekühltes Dichlormethan wurde zum Plasma gegeben. 1 Std. wird der Scheidetrichter bei Raumtemperatur im Rotationsschüttler geschüttelt. Danach wird der Scheidetrichter 10 min stehengelassen. Zur Trennung der wässrigen und organischen Phase wird das Dichlormethan in Bechergläser abgelassen. Die organische Phase wird verworfen.

d) Chromatographie

Die Papierstreifen für die Chromatographie (Schleicher und Schüll No. 2043 Filterpapier) wurden zur Reinigung und Imprägnation durch eine mit Methanol gefüllte Petrischale gezogen und bei Zimmertemperatur getrocknet. Die eingeengte Probe im Becherglas wird mit 2 x 100 µl Methanol aufgenommen, in dem eine Spur Isatin (Indikator) gelöst ist. Der Auftragpunkt liegt 9 cm vom Anfang des Papierstreifens entfernt. An beiden Seiten der Auftragsstelle blieb ein Rand von ungefähr 0,5 cm frei, um ein

gleichmäßiges 'Laufen' der Probe zu gewährleisten. Das Becherglas wurde mit 300 µl Methanol nachgespült. Die Lösung wurde ebenfalls aufgetragen.

Die absteigende Papierchromatographie wurde in dieser Studie verwendet. Für die stationäre und mobile Phase wurden Isooctan, Benzol, Methanol und Wasser (bidest.) im Verhältnis von 15:35:30:20 angesetzt (131). 500 ml der stationären Phase wurde in die Chromatographiekammer gebracht. Die Papierstreifen wurden in Glasrinnen aufgehängt, die mit Äthanol gereinigt waren. Die Streifen wurden ca. 15-20 Std. vor Beginn der Chromatographie zur Äquilibrierung in die Kammer gehängt. Die Chromatographie wird zur Zugabe von 100 ml mobile Phase in die Glasrinnen gestartet. Die Laufzeit war bei 19° C Raumtemperatur ca. 6-9 Stunden. Wenn das Isatin vom Startpunkt aus ca. 12 cm gelaufen war, wurde die Chromatographie beendet. Die Streifen wurden aus der Kammer genommen und zum Trocknen aufgehängt.

Für die Markierung der getrennten Radioaktivität wurde ein Papierstreifenscanner (Berthold LB, 280, München, FRG) benutzt. Die Steroidzonen wurden anhand der entsprechenden radioaktiven Peaks in einer Breite von ca. 2 cm ausgeschnitten.

e) Elution

Die Elution der ausgeschnittenen Papierstreifen erfolgte in 10 ml Methanol für eine Stunde. Daraufhin wurde das Methanol unter dem Abzug eingeengt und die verdampften Proben mit je 1 ml Tris-Puffer aufgenommen (Eluat).

f) Radioimmunoassay

f.1) Ansatz und Eichkurve

Die Pufferlösung wurde wie folgt vorbereitet: 6,05 g Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan wurde in 500 ml Wasser (bidest.) gelöst und mit conc. Essigsäure auf pH 8,0 eingestellt. Anschließend wird 300 µl Beriglobin zugegeben.

Die RIA-Proben von 18-OH-B, Aldo und 18-OH-DOC werden nach folgendem Schema angesetzt:

300 µl Papierstreifeneluat + 100 µl radioaktives Antigen + 100 µl Antikörper (siehe Schema unten).

Zur Bestimmung des Verlustindikators (Wiederfindung) werden 300 µl von jedem Eluat in Szintillationszählerflüssigkeit (Unisolve) gegeben.

Eluat (µl)	Pufferzusatz (µl)	RA-Antigen 1000 cpm in 100 µl)	Antiserum (µl)
300	---	100	100

Pipettierschema für die Steroide 18-OH-B, Aldo und 18-OH-DOC.

Der RIA von Corticosteron wird nach folgendem Schema angesetzt:

50 µl Papierstreifeneluat + 250 µl Puffer + 100 µl radioaktives Antigen + 100 µl Antikörper (siehe Schema nächste Seite).

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurde 500 µl vom Eluat in Szintillationszählerflüssigkeit gegeben.

Eluat (µl)	Pufferzusatz (µl)	RA-Antigen (2000 cpm in 100 µl)	Antiserum (µl)
50	250	100	100

Pipettierschema für das Steroid Corticosteron.

Für die Eichkurve des 18-OH-B, Aldo, 18-OH-DOC und B wird nach folgendem Pipettierschema gearbeitet (siehe Schema unten).

Proben-bezeichung	Puffer (µl)	Steroid-verdünnung	RA-Antigen 1000 cpm (µl)	Antiserum (µl)
100 %	900	---	100	---
o pg	300	---	100	100
3 pg	200	100	100	100

Pipettierschema für die Eichkurve (18-OH-B, Aldo, 18-OH-DOC und B).

Der 100 %-Wert der zugesetzten Radioaktivität besteht aus 900 µl Puffer und 100 µl radioaktivem Steroid. Die Eichproben der Radioimmunoassay-Ansätze werden wie bei der Titerbestimmung weiterverarbeitet.

Mit dem gebundenen Anteil der Radioaktivität der einzelnen Proben werden die Steroidkonzentrationen aus der Eichkurve abgelesen.

$$x = \text{pg Steroid/Ansatz}$$

$$\frac{x \times \text{Faktor } 20 \times 15000}{\text{Recovery}} = \text{ng/ml}$$

f.2) Qualitätskontrolle des Radioimmunoassay

f.2.1) Präzision

Interassay-Bestimmungen wurden zur Kontrolle der Methode von Proben (n=10) des gleichen Plasma-Pools ("Standard-Plasma") nacheinander in vier verschiedenen Ansätzen ermittelt.

f.2.2) Richtigkeit (Accuracy)

Die Richtigkeit zeigt das Verhältnis zwischen zugesetzter und tatsächlich gemessener Substanzmenge an. Im Idealfall sollte eine Korrelation von r=1 (y=x) entstehen. Um die Richtigkeit des Multisteroidassay in diesem Verfahren zu bestimmen, werden bekannte Mengen der unmarkierten Steroide zu 1 ml Addison-Pool-Plasma zugesetzt. Die Proben wurden für alle Punkte durch wiederholte Analysen getestet (n=10). Die Steroide wurden in zunehmender Menge zugesetzt und wie üblich die Analyse durchgeführt.

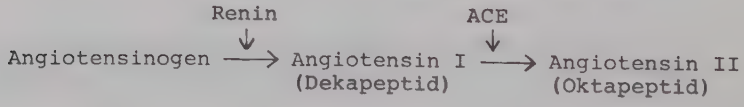
f.2.3) Blank

Der Blank wird durch unbekannte Stoffe verursacht, die eine unspezifische Kreuzreaktion mit dem Antikörper bedingen.
1) Um die Blanks der Papierchromatographiestreifen zu testen, wurde anstelle des Puffers die gleiche Menge Papiereluat zu allen Probenröhrchen der Eichkurven zugesetzt ("verfälschte Eichkurve").
2) Um die Blankfreiheit des Gesamtassays zu testen, wurde 1 ml Plasma von beidseits andrenalektomierten Patienten ("O-Plasma) analysiert (n=10).

III. Radioimmunologische Bestimmung der Plasmareninaktivität

Bei diesem Verfahren wird das Renin indirekt über die Messung des Dekapeptids AI, dem primären enzymatischen Reaktionsprodukt des Renin, bestimmt (siehe Schema unten) (51). Dazu wird das Plasma zur Freisetzung von AI bei 37°C und pH 7,4 eine Stunde lang inkubiert, wobei zur Verhinderung des AI-Abbaus über unspezifische Peptidasen 8-Hydroxychinolin und Dimercaprol zugesetzt werden. Nach entsprechender Verdünnung wird die Menge des so freigesetzten AI mit einem Radioimmunoassay bestimmt. Als radioaktiv markiertes Antigen verwendet man 125J-AI. Aus der Menge des freigesetzten AI werden dann Rückschlüsse auf die Reninaktivität gezogen.

Reaktionsschema: Synthese von Angiotensin II



IV. Statistische Methoden

Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte ± SEM dar. Die Auswertung der Unterschiede zwischen den Wertepaaren erfolgte nach der Varianz-Analyse. Bei Erhalt eines signifikanten F-Wertes wurden Vergleiche zwischen einzelnen Wertepaaren der t-Test-Analyse unterzogen.

F. ERGEBNISSE

1) Methodik

1.1) Antiseren

Tabelle 1 zeigt die kinetischen Daten der zur Bestimmung der Steroidplasmaspiegel verwendeten Antiseren. Die Ergebnisse der Spezifitätsuntersuchungen dieser Antiseren sind in Tabelle 2 und in den Abbildungen 9 - 12 dargestellt. Dabei lag die Kreuzreaktivität aller Antiseren zum Teil deutlich unter 1 %. Lediglich für das 18-Hydroxydesoxycorticosteron Antiserum ergab sich in zwei Fällen eine Kreuzreaktion über 1 % (gegen 18-OH-B und Aldo).

1.2) Extraktion und Chromatographie

Die radioaktiven Wiederauffindungsraten der vier Steroide nach Extraktion und Chromatographie (n=10) waren (Ausgangsradioaktivität = 100 %) für 18-Hydroxycorticosteron 39 $\pm$ 7 %, für Aldosteron 37 $\pm$ 7 %, für 18-Hydroxydesoxycorticosteron 38 $\pm$ 5 % und für Corticosteron 40 $\pm$ 6 %.

Eine vollständige Trennung der zu untersuchenden Mineralkortikoide nach der Extraktion war mit dem System Isooctan-Benzol-Methanol-Wasser (3:7:6:4) möglich. In Laufrichtung vom Startpunkt aus gesehen liegen die Steroide wie folgt: 18-OH-B, Aldo, 18-OH-DOC, B und DOC (siehe Abb. 13).

Die Beziehung zwischen Temperatur und Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase zeigt Abbildung 14. Eine maximale Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase wurde im klimatisierten Chromatographieraum bei Temperaturen zwischen 16 und 18°C erreicht.

1.3) Radioimmunoassay

1.3.1) Präzision

Bei den Plasma-Pool-Interassay-Bestimmungen (n=10) wurden folgende Werte gemessen: 18-Hydroxycorticosteron 258 ± 38 (14,7 % = Variationskoeffizient), Aldosteron 137 ± 15 (10,9 %) und 18-Hydroxydesoxycorticosteron 128 ± 15 pg/ml (11,7 %); Corticosteron 4,99 ± 0,47 ng/ml (9,4 %).

1.3.2) Richtigkeit (Accuracy)

Das Verhältnis zwischen zugesetzter und wiedergefundener Menge der Steroide zeigt die Abbildung 15 (n=10). Die Gerade hat nahezu die Steigung 1. Damit zeigt sich, daß die wiedergefundene Menge weitgehend der zugegebenen Menge entsprach.

1.3.3) Blank

Die Bestimmungen aus 1 ml Plasma der adrenalektomierten Patienten (n=10) ergaben für 18-Hydroxycorticosteron 8 ± 5 pg/ml, für Aldosteron 7 ± 3 pg/ml, für 18-Hydroxydesoxycorticosteron 6 ± 3 pg/ml und für Corticosteron 0,11 ± 0,04 ng/ml. Die Abbildung 16 zeigt die normale Eichkurve und die durch Blankzusatz verfälschte Eichkurve der einzelnen Antiseren. Für das 18-Hydroxycorticosteron, Aldosteron und 18-Hydroxydesoxycorticosteron Antiserum waren die Papierblankeichkurven mit den Originaleichkurven praktisch identisch. Die Papierblankkurve des Corticosteron Antiserums lag etwas höher als die normale Standardkurve ("negativer Blank").

Tab. 1: Vergleich der kinetischen Daten der verwendeten Antikörper

K_D = Affinitätskonstante

Antikörper gegen	Charakteristika der Antikörper		Anzahl der Booster-Injektionen
	Endtiter	K_D (mol/l)	
18-Hydroxy-Cortico-steron	1:3500	2.3×10^{-10}	4
Aldosteron	1:150000	1.1×10^{-10}	6
18-Hydroxy-Desoxy-Cortico-steron	1:70000	1.6×10^{-10}	6
Cortico-steron	1:25000	1.6×10^{-10}	8

Tab. 2: Die Kreuzreaktionen im Prozent der getesteten Antiseren mit verschiedenen biologisch-relevanten Steroiden

Kreuzreagierende Steroide	18-Hydroxy-corticosteron	Aldosteron	18-Hydroxy-desoxycorticosteron	Corticosteron
18-OH-Corticosteron	100,0	0,142	3,300	0,255
Aldosteron	0,043	100,0	3,700	0,013
18-OH-Desoxycorticosteron	0,114	0,006	100,0	0,065
Corticosteron	0,048	0,153	0,021	100,0
Desoxycorticosteron	0,013	0,444	0,051	0,072
Cortison	0,006	0,923	0,031	0,058
Cortisol	0,034	0,333	0,015	0,061
Testosteron	0,025	0,240	0,062	0,176
Progesteron	0,009	0,571	0,357	0,040
17-β-Östradiol	0,013	0,007	0,015	0,035
11-Desoxycortisol	0,016	--	--	0,027
Pregnenolon	0,018	--	0,053	0,111
Tetrahydroaldosteron	0,016	0,800	0,025	0,017
Tetrahydrocorticosteron	--	0,070	--	--
Tetrahydrodesoxycorticosteron	--	0,034	--	--

18-Hydroxycorticosteron-Antiserum Titer 1:3500

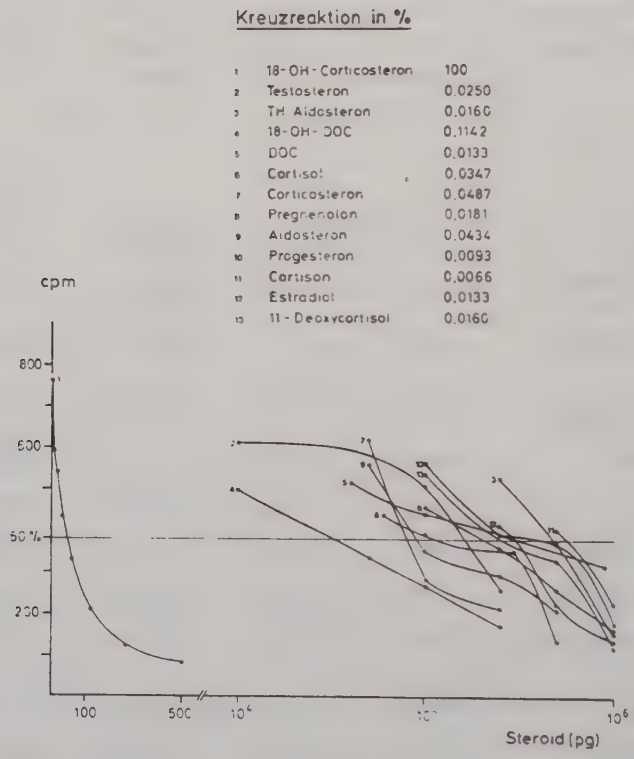


Abb. 9: Kreuzreaktionen des 18-OH-Corticosteron Antiserums: modifiziert nach (130)

Aldosteron Antiserum Titer 1:135000

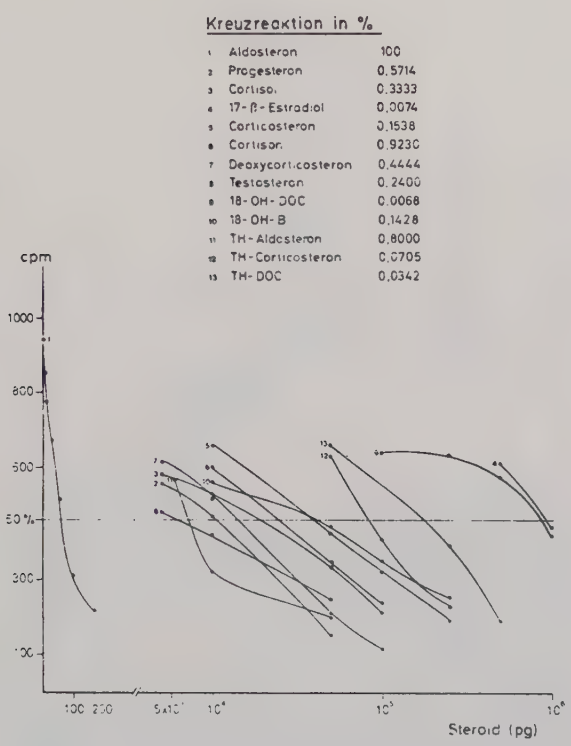


Abb. 10: Kreuzreaktionen des Aldosteron Antiserums: modifiziert nach (130)

18-OH-Desoxycorticosteron Antiserum Titer 1:70000

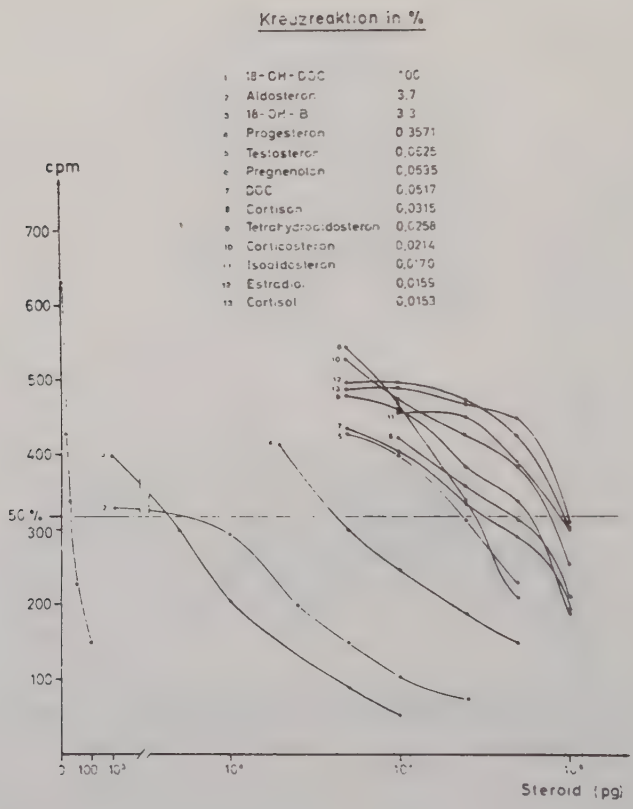


Abb. 11: Kreuzreaktionen des 18-OH-Desoxycorticosteron Antiserums: modifiziert nach (130)

Corticosteron Antiserum Titer 1:30000

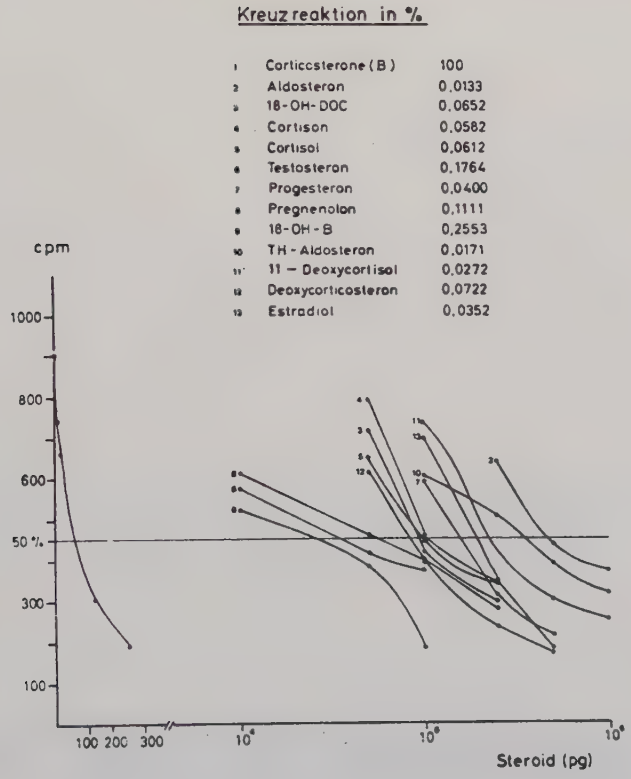


Abb. 12: Kreuzreaktionen des Corticosteron Antiserums: modifiziert nach (130)

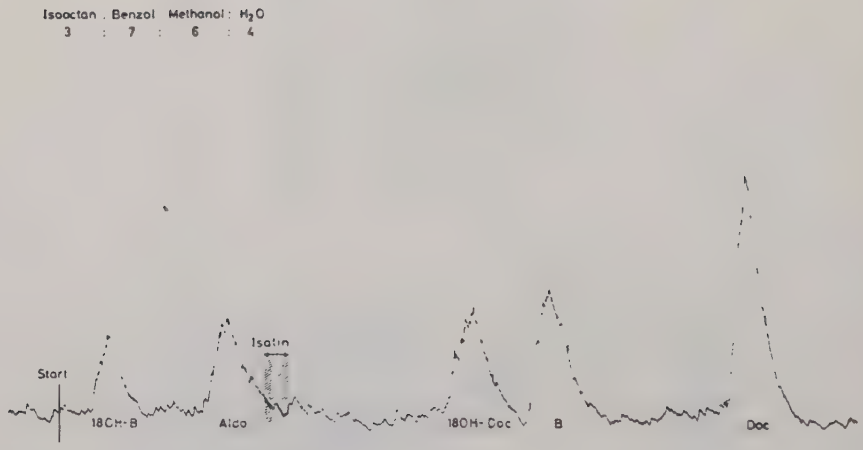


Abb. 13: Radiochromatogramm des Chromatographiesystems Isooctan:Benzol:Methanol:Wasser (3:7:6:4): entnommen aus (131)

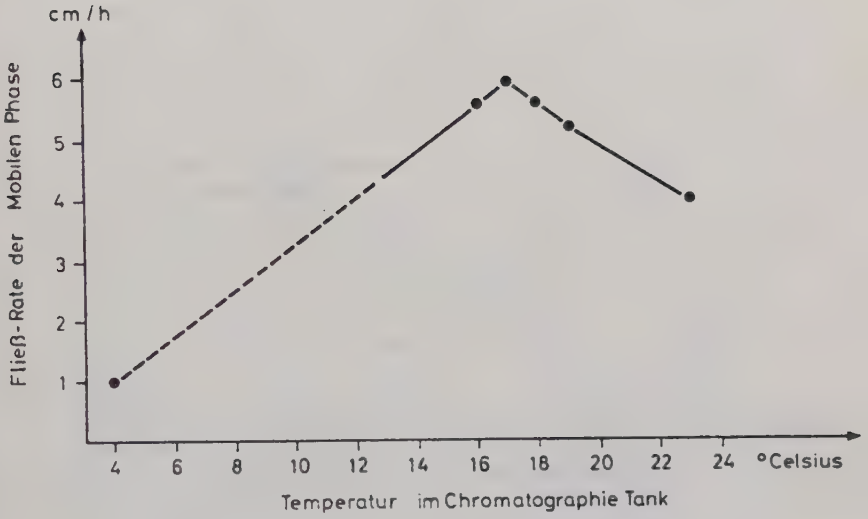


Abb. 14: Beziehung zwischen Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase und Temperatur bei dem Chromatographiesystem Isooctan:Benzol:Methanol:Wasser (3:7:6:4): entnommen aus (131)

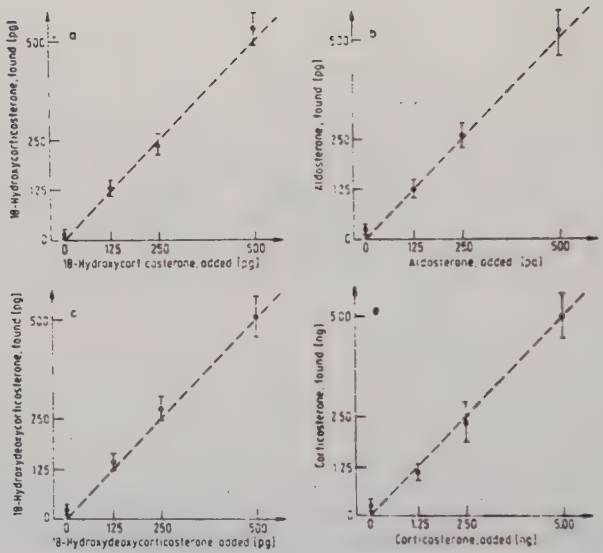


Abb. 15: Korrelation zwischen zugesetzter und wiedergefundener Menge an unmarkierten Steroide, entnommen aus (130)

a)	18-Hydroxycorticosteron :	y=5	+ 1,02x ;	r=0,98
b)	Aldosteron:	y=12	+ 1,01x ;	r=0,98
c)	18-Hydroxydesoxy-corticosteron:	y=25	+ 0,96x ;	r=0,98
d)	Corticosteron:	y=0,05	+ 0,99x ;	r=0,98

r = Korrelationskoeffizient
n = 10

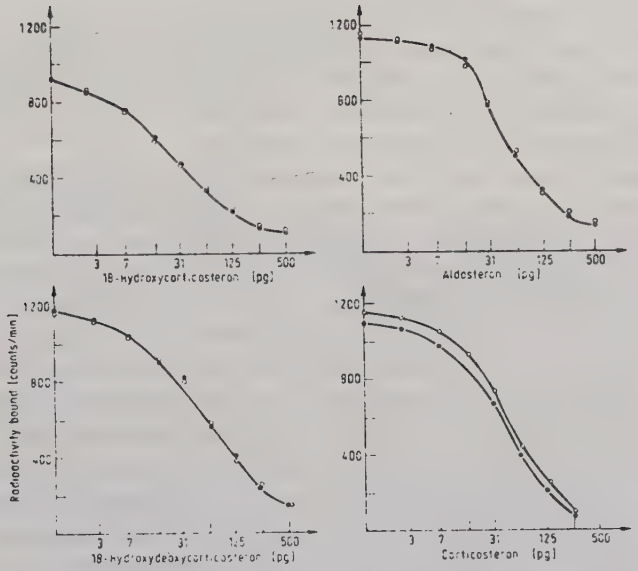


Abb. 16: ●——● normale Eichkurve

o——o Eichkurve, in der anstelle Puffer Papiereluat umgesetzt wurde ("verfälschte" Eichkurve)

n = 10

Entnommen aus (130)

2) Untersuchungen an normotensiven Probanden und Patienten mit essentieller Hypertonie

2.1) Aldosteron und seine Vorstufen nach Furosemid i.v.

2.1.1) Allgemeine Parameter

Aus Tabelle 3 sind die basalen Parameter der Normalpersonen, der essentiellen Normal-renin-Hypertoniker und der essentiellen Low-renin-Hypertoniker zu entnehmen. Die drei Gruppen waren bezüglich Geschlecht, Alter, Gewicht, Plasmakalium sowie 24-Std. Natrium- und Kaliumexkretion vergleichbar. Der systolische ($p < 0,01$) und diastolische ($p < 0,01$) Blutdruck in Ruhe (im Liegen) war bei Patienten mit Low-renin-Hypertonie höher als bei Patienten mit Normal-renin-Hypertonie.

In allen Gruppen veränderten sich die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte 15 min und 120 min nach Injektion von Furosemid nicht signifikant. 120 min nach Furosemid i.v. unter aktiver Orthostase lagen die durchschnittlichen Blutdruckwerte aller untersuchten Gruppen höher. Die Plasmakaliumkonzentrationen 15 min nach Lasix waren identisch mit den Basalwerten (Tab. 4). Die Exkretionswerte von Natrium 15 min nach Furosemid waren für Normalpersonen 2,3 $\pm$ 0,6 mval/min, für essentielle Normal-renin-Hypertoniker 2,1 $\pm$ 0,5 mval/min und für essentielle Low-renin-Hypertoniker 2,0 $\pm$ 0,6 mval/min. Die Exkretionswerte von Kalium 15 min nach Lasix i.v. ergaben für Normalpersonen 0,34 $\pm$ 0,11 mval/min, für essentielle Normal-renin-Hypertoniker 0,30 $\pm$ 0,9 mval/min und für essentielle Low-renin-Hypertoniker 0,29 $\pm$ 0,12 mval/min. Es war kein signifikant differentes Verhalten zwischen den untersuchten Gruppen zu verzeichnen.

2.1.2) Plasmareninaktivität

Tabelle 5 zeigt den Anstieg der Plasmareninaktivität nach Furosemid i.v.. Wir konnten einen signifikanten Anstieg der PRA bei normotensiven Probanden und bei essentiellen Normal-renin-Hypertonikern 15 min nach i.v. Gabe von Furosemid feststellen. Der Anstieg bei NREH war jedoch signifikant geringer ($p < 0,01$). Alle PRA-Werte der essentiellen Low-renin-Hypertoniker lagen signifikant niedriger als die jeweils korrespondierenden Werte der NP bzw. NREH ($p < 0,01$) (Abb. 17).

2.1.3) Plasmaaldosteron

Bei normotensiven Probanden stieg der Plasmaaldosteronspiegel 15 min nach Lasix i.v. signifikant an ($p < 0,01$). Die essentiellen Normal-renin-Hypertoniker zeigten keinen signifikanten Anstieg des Aldosteron. Bei den Patienten mit essentieller Low-renin-Hypertonie jedoch wurde ein signifikanter Anstieg von Aldosteron festgestellt, obwohl kein Anstieg der Plasmareninaktivität nachweisbar war. Der durchschnittliche Plasmaaldosteronspiegel 120 min nach Furosemid war bei den beiden Hypertoniegruppen im Vergleich zu den Normotonikern niedriger ($p < 0,01$; $p < 0,01$) (Abb. 17) (Tab. 6).

2.1.4) 18-Hydroxycorticosteron

Die Plasmaspiegel von 18-Hydroxycorticosteron verhielten sich parallel zu den Aldosteronkonzentrationen bei allen Probanden. Ein signifikanter Anstieg 15 min nach Lasix war bei normotensiven Probanden ($p < 0,01$) und essen-

tiellen Low-renin-Hypertonikern zu beobachten, aber nicht bei essentiellen Normal-renin-Hypertonikern (Abb. 17) (Tab. 6). Der relative Anstieg des 18-OH-B bei LREH war signifikant höher als bei NREH ($p < 0,05$). Der durchschnittliche Anstieg von 18-OH-B 120 min nach Furosemid und zusätzlicher aktiver Orthostase war signifikant niedriger bei beiden Hypertoniegruppen ($p < 0,01$; $p < 0,05$) als bei gesunden Probanden.

2.1.5) 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron

Die Plasmaspiegel von 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron 15 min nach Furosemid i.v. blieben gleich bei allen untersuchten Gruppen. Jedoch wurde ein signifikanter Anstieg ($p < 0,01$) dieser beiden Steroide 120 min nach Lasix mit aktiver Orthostase festgestellt (Tab. 7).

Tab. 3: Charakteristika von Normalpersonen (NP) und Patienten mit essentiellen Normal-renin-Hypertonie (NREH) und essentiellen Low-renin-Hypertonie (LREH)

$\bar{x} \pm SD$

	NP	NREH	LREH
	n = 20	n = 16	n = 12
Alter (Jahre)	35 ± 9	37 ± 8	40 ± 7
männlich	13	10	8
Weiblich	7	6	4
Gewicht (kg)	78 ± 7	80 ± 8	79 ± 6
Blutdruck (mm Hg)			
- Systolisch	105 ± 13	158 ± 16[a]	170 ± 17[a]
- Diastolisch	76 ± 9	104 ± 12[a]	113 ± 10[a]
Harnstoff-N (mg/100 ml)	19 ± 4	21 ± 5	20 ± 4
Kreatinin (mg/100 ml)	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1
Plasmakalium (mval/l)	4,3 ± 0,9	4,1 ± 0,8	4,0 ± 0,7
Urin-Natrium (mval/24 Std)	198 ± 28	190 ± 25	189 ± 27
Urin-Kalium (mval/24 Std)	79 ± 7	77 ± 10	78 ± 11

a) $p < 0,01$ vs korrespondierende Werte der NP

Tab. 4: Verhalten von Plasmakalium basal, 15 min und 120 min nach Furosemid mit zusätzlicher aktiver Orthostase

		Plasmakalium mval/l
Normalpersonen	basal	4,3 ± 0,7
	15 min	4,3 ± 0,6
	120 min	4,0 ± 0,7
Essentielle Normal-renin-Hypertoniker	basal	4,1 ± 0,6
	15 min	4,0 ± 0,5
	120 min	3,9 ± 0,6
Essentielle Low-renin-Hypertoniker	basal	4,0 ± 0,5
	15 min	3,9 ± 0,7
	120 min	3,8 ± 0,6

Tab. 5: Anstieg von Plasmareninaktivität bei Normalpersonen, essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern 15 min und 120 min nach Furosemid mit aktiver Orthostase

$\bar{x} \pm SD$

		Plasmareninaktivität (ng AI/ml.h)
	basal	0,81 ± 0,41
Normalpersonen	15 min	3,41[b] ± 1,48
n = 20	120 min	6,53[b] ± 2,73
Essentielle	basal	0,73 ± 0,48
Normal-renin-	15 min	1,88[a,1] ± 1,99
Hypertoniker	120 min	4,71[b] ± 5,78
n = 16		
Essentielle	basal	0,18[1] ± 0,08
Low-renin-	15 min	0,20[1] ± 0,10
Hypertoniker	120 min	0,53[b,1] ± 0,33
n = 12		

a) $p < 0,05$, b) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basal-Werte

1) $p < 0,01$ vs korrespondierende Werte der NP

Tab. 6: Anstieg von Plasmaaldosteron und 18-Hydroxy-corticosteron bei Normalpersonen, essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern 15 min und 120 min nach Furosemid i.v. mit aktiver Orthostase

		Aldosteron pg/ml	18-OH-Corti-costeron pg/ml
	basal	109 ± 28	199 ± 90
Normalpersonen	15 min	139^{b} ± 40	279^{b} ± 85
n = 20	120 min	382^{b} ± 63	684^{b} ± 169
Essentielle	basal	101 ± 51	180 ± 83
Normal-renin-	15 min	$125 \pm 65^{b,2}$	$231 \pm 102^{b,2}$
Hypertoniker	120 min	270 ± 140	489 ± 233
n = 16			
Essentielle	basal	111 ± 37	162 ± 101
Low-renin-	15 min	$160^{a} \pm 66^{b,2}$	$261^{b} \pm 71^{b,1}$
Hypertoniker	120 min	254 ± 96	503 ± 299
n = 12			

a) $p < 0,05$, b) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basalwerte

1) $p < 0,05$, 2) $p < 0,01$ vs korrespondierende Werte der NP

Tab. 7: Verhalten von 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron bei Normalpersonen, essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern 15 min und120 min nach Furosemid i.v. und aktiver Orthostase

		18-OH-DOC pg/ml	B ng/pl
	basal	95 ± 45	1,7 ± 1,4
Normalpersonen	15 min	104 ± 42	2,0 ± 1,8
n = 20	120 min	194[a] ± 65	6,6[a] ± 5,1
Essentielle	basal	83 ± 34	1,3 ± 0,9
Normal-renin-	15 min	97 ± 35	1,5 ± 0,8
Hypertoniker	120 min	155[a] ± 82	4,5[a] ± 2,2
n = 16			
Essentielle	basal	74 ± 31	1,3 ± 0,6
Low-renin-	15 min	87 ± 32	1,7 ± 0,7
Hypertoniker	120 min	150[a] ± 90	5,3[a] ± 2,7
n = 12			

a) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basalwerte

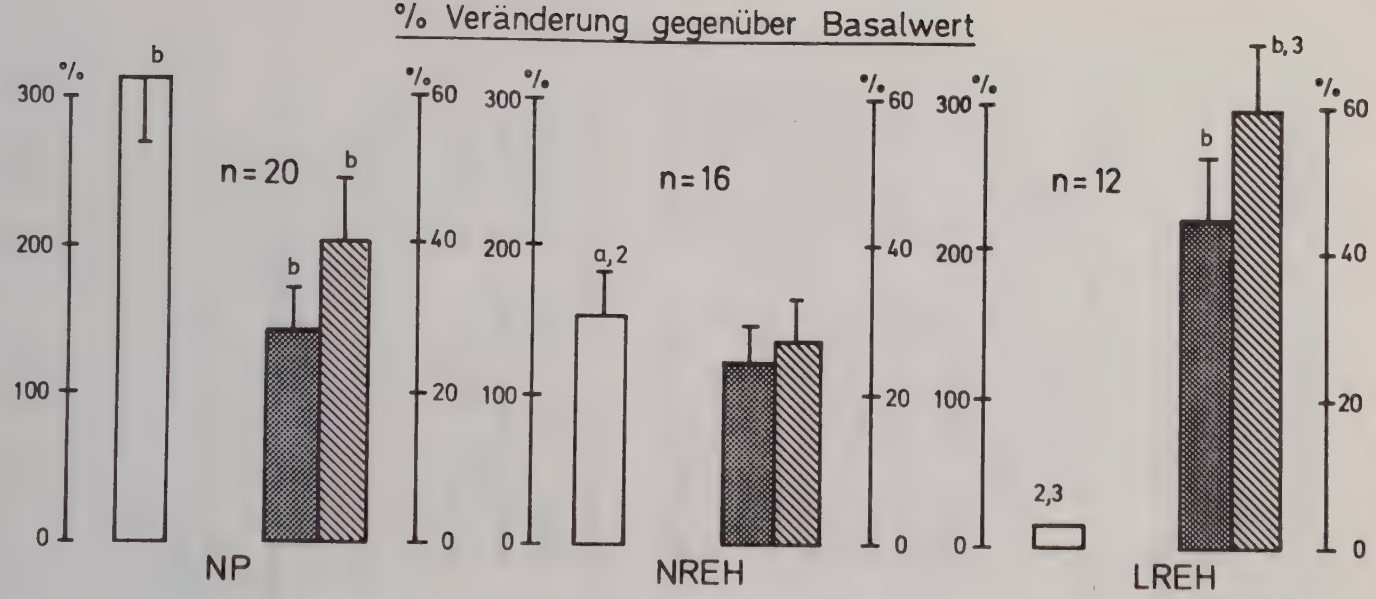


Abb. 17: Anstieg in Prozent der Plasmareninaktivität (PRA), Aldosteron (Aldo) und 18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) 15 min nach Furosemid i.v. bei Normalpersonen (NP), essentiellen Normal-renin-Hypertonikern (NREH) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern (LREH)

a) $p < 0,05$, b) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basalwerte

2) $p < 0,01$ vs korrespondierende Werte der NP

3) $p < 0,05$ vs korrespondierende Werte der NREH

2.2) Aldosteron und seine Vorstufen nach NaCl-Infusion

2.2.1) Allgemeine Parameter

Bei Normalpersonen und essentiellen Hypertonikern war am Ende der 4stündigen 0,9 % NaCl-Infusion der Blutdruck nicht verändert (115 ± 10/76 ± 11; 152 ± 23/97 ± 14 mm Hg).

Die Tabelle 8 zeigt das Verhalten der Natrium-, Kalium- und Wasserexkretion unter isotoner Kochsalzbelastung. Während der Infusion (U1) ließ sich die vermehrte Natrium- ($p < 0,05$) und Wasserausscheidung ($p < 0,01$) der essentiellen Hypertoniker statistisch sichern. Im Anschluß an die Infusion schieden Normalpersonen mehr Natrium aus als essentielle Hypertoniker ($p < 0,01$). Die Kaliumexkretion stieg bei NP und EH mit Beginn der Infusion an ($p < 0,01$; $p < 0,05$) und erreichte im abschließenden 24-Std-Urin (U2) wieder ihren Ausgangswert.

2.2.2) Plasmareninaktivität

Die Plasmareninaktivität fiel bei Normalpersonen von 0,82 ± 0,28 (P0) auf 0,56 ± 0,16 (P1) und 0,32 ± 0,09 (P2) ng/ml/h, bei essentiellen Hypertonikern von 0,67 ± 0,41 (P0) auf 0,50 ± 0,31 (P1) und 0,30 ± 0,16 (P2) ng/ml/h ab. Der Abfall von P1 auf P2 war für Normalpersonen und essentielle Hypertoniker statistisch signifikant ($p < 0,001$; $p < 0,05$), von P0 auf P1 ließ sich nur für NP die Abnahme der PRA statistisch sichern ($p < 0,02$). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen essentiellen Hypertonikern und Normalpersonen bezüglich der Plasmawerte und des prozentualen Abfalls der Plasmareninaktivität ergab sich jedoch nicht (Tab. 9).

2.2.3) Plasmaaldosteron

Der Plasmaaldosteronspiegel verminderte sich 4 Std. nach isotoner Kochsalzbelastung bei Normalpersonen von 99,5 ± 41,5 (P0) auf 61,76 ± 35,60 (P2) pg/ml (Tab. 10) (Abb.18). Dieser Abfall ließ sich statistisch sichern ($p < 0,01$). Auch die Plasmaaldosteronspiegel bei essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern zeigten einen statistisch signifikanten Abfall bezüglich der Basalwerte zu den Werten am Ende der NaCl-Infusion ($p < 0,01$; $p < 0,01$).

2.2.4) 18-Hydroxycorticosteron

Die Plasmaspiegel von 18-Hydroxycorticosteron zeigten bei Normalpersonen am Ende der Infusion einen statistisch signifikanten Abfall ($p < 0,01$). Ein Abfall der Plasmaspiegel des 18-OH-B parallel zum Aldosteron war bei allen Probanden zu verzeichnen, er ließ sich aber bei den essentiellen Hypertonikern statistisch nicht sichern (Tab. 10) (Abb. 19).

2.2.5) 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron

Tabelle 11 zeigt das Verhalten von Plasma-18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron unter isotoner Kochsalzbelastung. Die beiden Steroide ließen sich unter Infusion nicht supprimieren und zeigten zwischen den untersuchten Gruppen kein signifikant differentes Verhalten (Abb. 20, 21).

Tab. 8: Exkretion von Natrium, Kalium und Wasser unter isotoner Kochsalzbelastung. Ein 24-Std.-Urin wurde am Vortag (U0), unter der Infusion (U1) und im Anschluß an die Infusion (U2) gesammelt.

		Natrium-exkretion meq/h	Kalium-exkretion meq/h	Wasser-ausscheidung ml/h
Normal-personen	U0	7,46 ± 3,21	2,5 ± 0,9	55 ± 27,08
	U1	14,5 ± 8,75	6,2[b] ± 2,3	95,25 ± 30,75
	U2	12,5[c] ± 5,46	2,4 ± 0,8	82,5 ± 32,08
Essentielle Hypertoniker	U0	6,5 ± 3,13	2,0 ± 0,7	60,83 ± 27,08
	U1	23,75[a] ± 14,25	4,8[a] ± 2,0	188,25[b] ± 65
	U2	9,88 ± 3,25	2,0 ± 0,9	87,5 ± 40,83

a) $p < 0,05$ vs korrespondierende Basalwerte

b) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basalwerte

c) $p < 0,01$ vs korrespondierender Wert der EH

Tab. 9: Abfall der Plasmareninaktivität bei Normalpersonen und essentiellen Hypertonikern 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende (P2) der 4-stündigen Kochsalzbelastung (P0 = Basalwert), $\bar{x} \pm SD$

		Plasmareninaktivität ng AI/ml.h
Normalpersonen	P0	0,82 ± 0,28
	P1	0,56[1] ± 0,16
	P2	0,32[a] ± 0,09
Essentielle Hypertoniker	P0	0,67 ± 0,41
	P1	0,50 ± 0,31
	P2	0,30[b] ± 0,16

a) $p < 0,001$ vs P1

b) $p < 0,05$ vs P1

1) $p < 0,02$ vs P0

Tab. 10: Abfall von Plasmaaldosteron und 18-Hydroxy-corticosteron bei Normalpersonen, essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende (P2) der 0,9 % NaCl-Infusion

$\bar{x} \pm SD$ (P0 = Basalwert)

		Aldosteron pg/ml	18-OH-B pg/ml
Normal-	P0	99,5 ± 41,5	258,75 ± 123,8
personen	P1	75,5 ± 27,8	199,6 ± 86,6
n = 20	P2	61,76[a] ± 35,60	154,1[a] ± 79,3
Essentielle	P0	103,9 ± 40,1	218,8 ± 131,1
Normal-renin-	P1	73,4 ± 30,0	179,12 ± 130,02
Hypertoniker	P2	64,8[a] ± 35,1	161,6 ± 52,6
n = 16			
Essentielle	P0	111,5 ± 14,38	298,2 ± 153,75
Low-renin-	P1	83,85 ± 35,97	215,8 ± 163,35
Hypertoniker	P2	61,6[a] ± 22,13	174,6 ± 126,84
n = 12			

a) $p < 0,01$ vs korrespondierenden Basalwert

Tab. 11: Verhalten von Plasma-18-OH-DOC und Corticosteron bei Normalpersonen, essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende (P2) der Kochsalzbelastung

$\bar{x} \pm$ SD (P0 = Basalwert)

		18-OH-DOC pg/ml	B ng/ml
Normal-	P0	120,7 ± 50,7	2,24 ± 0,97
personen	P1	121,5 ± 53,2	2,84 ± 1,48
n = 20	P2	94,58 ± 42,51	1,97 ± 1,16
Essentielle	P0	92,0 ± 33,4	2,17 ± 1,81
Normal-renin-	P1	83,0 ± 30,83	1,09 ± 0,54
Hypertoniker	P2	91,2 ± 47,4	1,75 ± 1,50
n = 16			
Essentielle	P0	130,71 ± 20,04	2,58 ± 0,85
Low-renin-	P1	119,66 ± 45,88	2,34 ± 1,15
Hypertoniker	P2	77,0 ± 51,12	1,88 ± 0,68
n = 12			

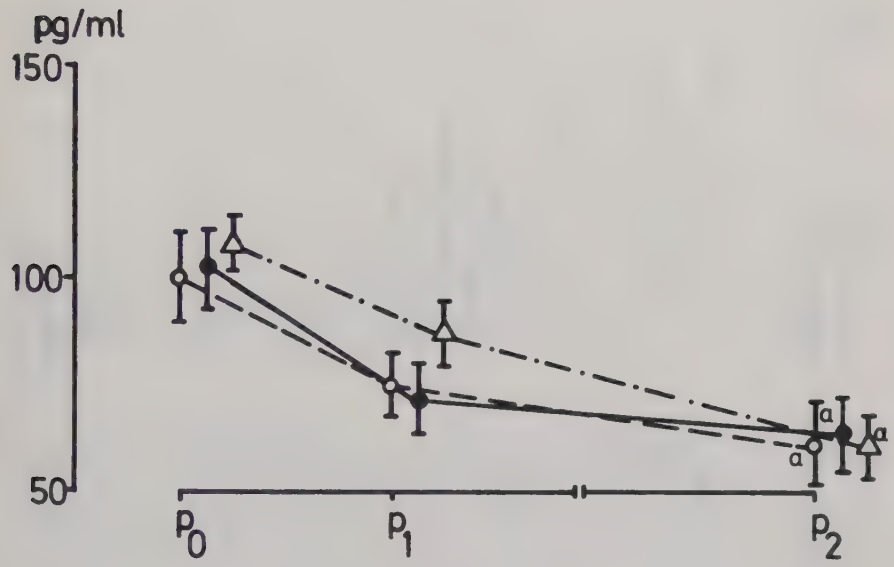


Abb. 18: Abfall des Plasmaaldosteron bei Normalpersonen (NP O) (n = 20), essentiellen Normal-renin-Hypertonikern (NREH ●)(n = 16) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern (LREH △) (n = 12) 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende der 0,9 % NaCl-Infusion

$\bar{x} \pm SD$

a) $p < 0,01$ vs korrespondierende Basalwerte

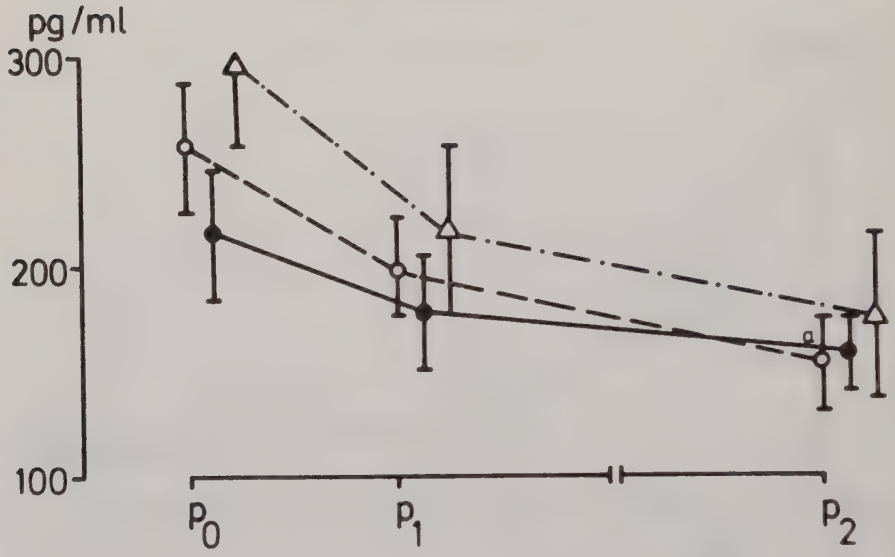


Abb. 19: Abfall des 18-Hydroxycorticosteron bei Normalpersonen (NP O) (n = 20), essentiellen Normalrenin-Hypertonikern (NREH ●) (n = 16) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern (LREH△) (n = 12) 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende (P2) der Kochsalzbelastung

$\bar{x} \pm SD$

a) $p < 0,01$ vs korrespondierenden Basalwert

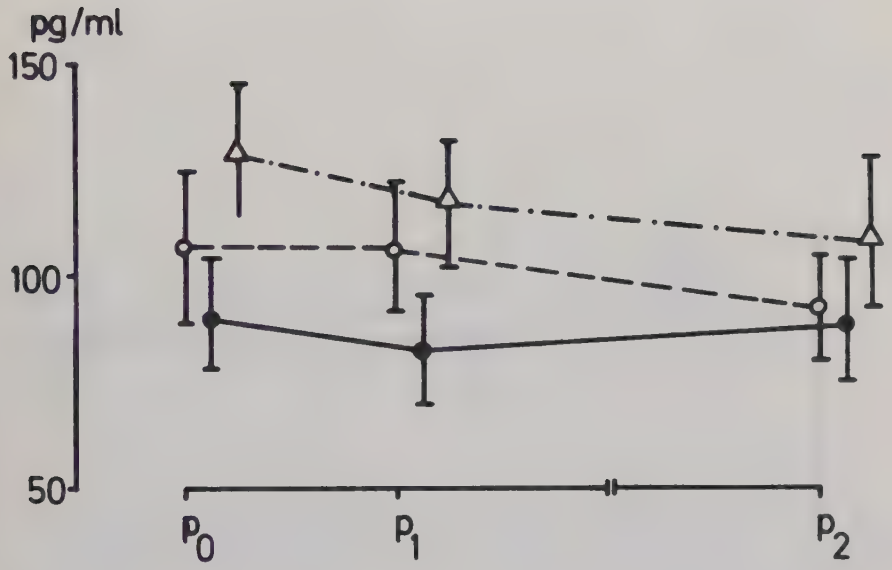


Abb. 20: Verhalten von 18-Hydroxydesoxycorticosteron bei Normalpersonen (NP O) (n = 20), essentiellen Normal-renin-Hypertonikern (NREH ●) (n = 16) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern (LREH △) (N = 12) 1 Std. nach Beginn und am Ende (P2) der NaCl-Infusion.

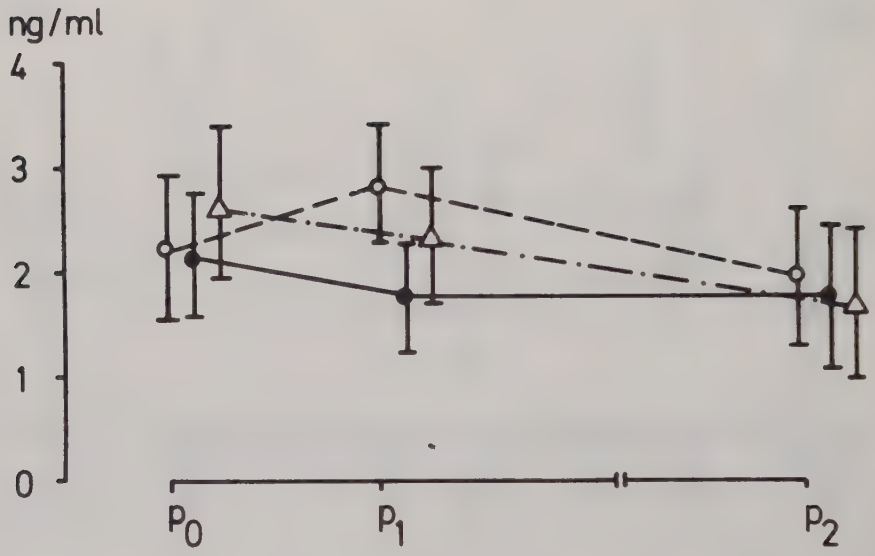


Abb. 21: Verhalten von Corticosteron bei Normalpersonen (NP O) (n = 20), essentiellen Normal-renin-Hypertonikern (NREH ●) (n = 16) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern (LREH ▲) (n = 12) 1 Std. nach Beginn (P1) und am Ende (P2) der 0,9 % NaCl-Infusion.

G. Diskussion

I. Methodik

In dieser Arbeit wurde ein Radioimmunoassay verwendet, mit dem Aldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron simultan aus 1 ml Plasma bestimmt werden können (130). Diese hoch spezifische und empfindliche Methode ermöglicht es, die genannten Steroide in einem chromatographischen Arbeitsgang mit niedrigen Verlustraten zu bestimmen. In der vorliegenden Studie wurde ein papierchromatographisches System zur Trennung von Aldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron angewendet, wobei eine vollständige Trennung aller vier Steroide mit dem chromatographischen System Isooctan:Benzol: Methanol:Wasser (3:7:6:4) möglich war (131). Die Vorbereitung und Bestimmung von 18-hydroxylierten Mineralcorticoiden (18-Hydroxycorticosteron und 18-Hydroxydesoxycorticosteron) ist schwierig, da sie bereits bei Kontakt mit Säurespuren sehr instabil sind (6, 95). Um unerwünschte Reaktionen der 18-Hydroxylgruppen zu vermeiden, wurden hochgereinigte, von Säuren freie, organische Lösungsmittel verwendet (Uvasol^{R}) und alle Pufferlösungen im leicht alkalischen Milieu angesetzt (pH 8). Die verschiedenen chromatographischen Verfahren mit Silica Gel (Dünnschicht-, Säulenchromatographie) verbieten sich wegen der Säureeigenschaft der Trägersubstanz für die Trennung der 18-hydroxylierten Steroide. Die Papierchromatographie wurde von uns als besonders schonende präparative Methode zur Trennung der Steroide gewählt, und die Exposition der Steroide gegenüber den organischen Lösungsmitteln wurde dadurch herabgesetzt, daß nur einmal extrahiert und chromatographiert wurde. In kürz-

lich erschienenen Veröffentlichungen über die Mehrfachbestimmung von Steroiden wurden mindestens zwei Extraktions- und zwei Chromatographieschritte vor den Radioimmunoassays durchgeführt (75, 100).

Die Laufsequenz der Steroide vom Startpunkt nach chromatographischer Trennung zeigte die Reihenfolge: 18-Hydroxycorticosteron, Aldosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron (Abb. 13). Die Beziehung zwischen Temperatur und Fließgeschwindigkeit des chromatographischen Systems ist in Abbildung 14 gezeigt. Eine maximale Fließgeschwindigkeit war bei Temperatur zwischen 16°C und 18°C möglich. Für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse war es deshalb notwendig, diese Temperaturgrenze konstant zu halten. Eine optimale Laufzeit ist bei der Chromatographie wichtig, da eine zu kurze Fließzeit zu einer ungenügenden Trennung und eine zu lange Fließzeit zu einem Verschmieren der zu trennenden Fraktionen führt. Mit dem verwendeten Farbstoff Isatin, der ein präziser Indikator für die Lokalisation des Aldosteron war, läßt sich die Laufstrecke der Steroide gut kontrollieren. Unter den obengenannten Bedingungen bei 17°C Raumtemperatur lief Isatin ca. 12 cm in 7 bis 9 Stunden.

Die Wiederfindungsraten der Steroide aus dem Plasma nach Extraktion und Chromatographie lagen im Bereich von 40 - 50 %. Diese hohen Recoveryraten konnten deshalb erreicht werden, da jeweils nur ein Extraktionsvorgang und nur ein chromatographischer Schritt durchgeführt wurden. Die Wiederfindungsraten der Steroide nach Extraktion und Chromatographie schwanken nach einigen Autoren zwischen 35 und 77 % (77, 108, 121).

Für die Aussagekraft der radioimmunologischen Bestimmung

spielt die Spezifität der verwendeten Antiseren eine große Rolle. Bei dem Radioimmunoassay des Aldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron kommt der Kreuzreaktion besondere Bedeutung zu, da die Kortikosteroide, welche kreuzreagieren, häufig in höherer Konzentration vorliegen als die obengenannten Steroide selbst. Die Spezifität der gewonnenen Antiseren wurde mit verschiedenen biologisch relevanten Steroiden oder deren Metaboliten getestet. Die durchgeführten Kreuzreaktionen der Antiseren in dieser Studie ergaben Werte, die deutlich unter 1 % lagen (Tab. 2, Abb. 9-12). Lediglich das 18-Hydroxydesoxycorticosteron Antiserum wies eine Kreuzreaktivität von 3 % gegenüber Aldosteron und 18-Hydroxycorticosteron auf. Es wurden somit hochspezifische Antiseren gegen alle Steroide gewonnen. Diese Ergebnisse waren mit den jüngsten Berichten anderer Autoren zu vergleichen (19, 57, 72, 122).

Die Sensitivität der Eichkurve kennzeichnet die Fähigkeit des Assaysystems, kleine Mengen der Testsubstanz mit hinreichender Genauigkeit vom virtuellen Nullpunkt sowie von beliebigen Punkten der Eichkurve zu diskriminieren. Die Sensitivität der Eichkurve ist um so größer, je steiler der Eichkurvenverlauf ist. Wegen der hohen Sensitivität dieser Methodik konnten die Steroide in kleinsten Mengen bestimmt werden. Dieser Umstand ist für die Steroidbestimmung, bei der sehr niedrige Substanzmengen nachgewiesen werden müssen, von besonderer Bedeutung.

Die Affinität der für einen Radioimmunoassay verwendeten Antiseren korreliert mit dessen Empfindlichkeit. Die Affinität läßt sich nach dem Verlauf der Eichkurven grob beurteilen: je steiler die Eichkurve, desto größer die Affinität der Antiseren und die Empfindlichkeit des

Assays. Durch die Reinigung von Antiseren ändert sich die Affinität der Antiseren. Die Eichkurven der verschiedenen Antiseren wurden in dieser Arbeit nach der Methodik von Nisonoff (87) und Scatchard (98) analysiert und die Affinitätskonstanten waren mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleichbar (Tab. 1) (57, 96, 110).

Erhöhte Blankwerte deuten auf eine Verunreinigung des Extraktions- und chromatographischen Systems durch immunoaktive Substanzen hin. Wenn die Blankwerte einer Bestimmungsreihe zu hoch liegen, muß die Bestimmung wiederholt werden. Für Aldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Corticosteron wurden in dieser Arbeit keine relevanten Assayblanks gefunden. Die Assayblanks, die sich aus dem Plasma von bilateral adrenalektomierten Patienten ergaben, lagen niedriger als die Sensitivität der entsprechenden Eichkurven (Abb. 16). Blankfreie Bedingungen konnten nur erreicht werden, wenn die Pufferlösung der Standardkurve durch Papiereluat ersetzt wurde. Dies war in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß keine Papier-Blanks dieser Steroide nachgewiesen werden konnten. In dieser Arbeit zeigten die Parallelen Plasma-Pool-Interassay-Bestimmungen mit jeder Probenserie bei Variationskoeffizienten zwischen 4 und 14 % eine ausgezeichnete Reproduzierbarkeit der gesamten Methode.

Bezüglich der Richtigkeit (Accuracy) dieser Methode (Abb. 15) konnte eine Korrelation zwischen zugesetzter und wiedergefundener Menge an unmarkierten Steroiden festgestellt werden (Korrelation von r = 1). Damit war ein wichtiges Kriterium der Genauigkeit der Methode erfüllt.

II. Untersuchungen an normotensiven Probanden und Patienten mit essentieller Hypertonie

a) Stimulationsversuch mit Furosemid

In dieser Studie konnte bei Normalpersonen 15 min nach Furosemid i.v. ein signifikanter Anstieg des Plasmaaldosteron und des 18-Hydroxycorticosteron nachgewiesen werden (Abb. 17). Bei essentiellen Normal-renin-Hypertonikern fand sich entsprechend der geringeren Stimulierbarkeit der Plasmareninaktivität 15 min nach Lasix auch ein geringerer Anstieg der Aldosteron- und 18-Hydroxycorticosteronspiegel. Bei den essentiellen Low-renin-Hypertonikern war zu diesem Zeitpunkt trotz vollständig supprimierter und nicht stimulierbarer Plasmareninaktivität ein signifikanter Anstieg der Aldosteron- und 18-OH-Corticosteron-Konzentrationen nachweisbar. Der relative Anstieg des 18-OH-B bei Patienten mit essentieller Low-renin-Hypertonie war im Vergleich zu Patienten mit essentieller Normal-renin-Hypertonie sogar signifikant höher. Aus den Ergebnissen läßt sich ableiten, daß nach Furosemidgabe bei Patienten mit essentieller Low-renin-Hypertonie eine gesteigerte Empfindlichkeit der Aldosteron- und 18-OH-Corticosteronfreisetzung besteht. 18-OH-B ist für diesen Mechanismus offenbar ein noch empfindlicherer Parameter als Aldosteron (132).

Die Ergebnisse dieser Studie werden von den Resultaten von Wisgerhof et al. (129) unterstützt, die eine größere Ansprechbarkeit der Nebennierenrinde auf Angiotensin II-Infusionen bei essentiellen Low-renin-Hypertonikern zeigten. Aber Wisgerhof et al. haben bei ihrer Untersuchung den 18-Hydroxycorticosteronspiegel nicht mitbestimmt. Semple et al. (101) haben einen höheren Anstieg

von 18-OH-Corticosteron nach Furosemid i.v. bei benignen essentiellen Hypertonikern als bei Normalpersonen beobachtet. Die Hypertoniker in der Arbeit von Semple et al. sind jedoch bezüglich ihres PRA-Verhaltens nicht näher definiert, so daß ein Vergleich zu den von uns untersuchten Patienten nicht möglich ist.

Folgende Mechanismen müssen als Ursache für den signifikanten Anstieg des Aldosteron und 18-Hydroxycorticosteron nach Furosemid i.v. bei essentiellen Low-renin-Hypertonikern diskutiert werden:

1) Kleine Mengen von Angiotensin II werden nach Applikation von Furosemid freigesetzt und der Radioimmunoassay, der für die Bestimmung der Plasmareninaktivität angewendet wurde, war vielleicht nicht empfindlich genug, um einen sehr kleinen Anstieg der Reninsekretion nachzuweisen. Die deutliche Ansprechbarkeit der Glomerulosazellen auf geringe Veränderungen der Angiotensin II-Spiegel bei Patienten mit essentieller Low-renin-Hypertonie könnte durch die erhöhte Affinität und/oder Zahl der adrenalen A II-Rezeptoren erklärt werden.

2) Außerdem könnte Furosemid eine direkte Wirkung auf die Glomerulosazellen besitzen. Furosemid stimuliert die Arachidonsäuresekretion der Nieren (41, 126), wahrscheinlich über die Aktivierung mehrerer Schritte (Phosphilipase A2, Phospholipase C, Phosphatidyl-Inositol Cyclus) die mit der Freisetzung dieser Fettsäure verknüpft sind (65). Solch ein Mechanismus wäre auch an der Glomerulosazelle denkbar, zumal nachgewiesen wurde, daß verschiedene Agonisten (A II, K^+) den Phosphatidyl-Inositol Cyclus der Glomerulosazelle stimulieren können (37). Unsere Versuchsanordnung kann jedoch zu dieser Hypothese keine Aussage machen.

3) ACTH kommt als stimulierender Faktor 15 min nach Furosemid i.v. nicht in Frage, da 18-Hydroxydesoxy-corti-

costeron und Corticosteron, die hauptsächlich der Regulation durch ACTH unterliegen (116), zu diesem Zeitpunkt keinen signifikanten Anstieg zeigten.
4) Es ist bekannt, daß Furosemid eine Steigerung der renalen PG-Synthese bewirkt (54, 58). Durch Vermittlung dieser Prostaglandine kommt es durch einen pharmakologischen Reiz auf die JG-Zellen zu einer Reninfreisetzung. Dieser durch Furosemid induzierte PRA-Anstieg kommt als Stimulus für die Aldosteronfreisetzung nicht in Frage, weil der Anstieg des Aldosteron und des Plasmarenin 15 min nach Furosemid i.v. rasch und parallel erfolgt, ohne zeitliche Latenz, die nötig wäre, wenn peripheres Angiotensin II die Aldosteronfreisetzung beeinflussen sollte.
5) Als weitere Möglichkeit könnte evtl. noch eine peripher nicht meßbare Elektrolytverschiebung an den Glomerulosazellen selbst diskutiert werden. 15 min nach Furosemid waren zwar keine signifikanten Veränderungen des Plasmanatrium oder -Kalium nachweisbar, die für eine Stimulation der Aldosteronfreisetzung verantwortlich zu machen wären, trotzdem könnten intrazelluläre Elektrolythverschiebungen der Glomerulosazelle vorliegen, die die Biosynthese des Aldosterons beeinflussen.

Die biologische Rolle des 18-Hydroxycorticosteron, das hauptsächlich in der Zona Glomerulosa gebildet wird, ist weitgehend ungeklärt (39). Es wird als unmittelbarer Vorläufer des Aldosterons in dessen Biosynthese angesehen (86, 118). Im allgemeinen spricht 18-OH-Corticosteron auf die gleichen Sekretionsreize wie Aldosteron (39), besitzt aber geringere oder keine mineralokortikoide Wirkung im Vergleich zu Aldosteron (119) und hat eine geringere Affinität zu den renalen Mineralokortikoidrezeptoren beim Menschen (11, 76).

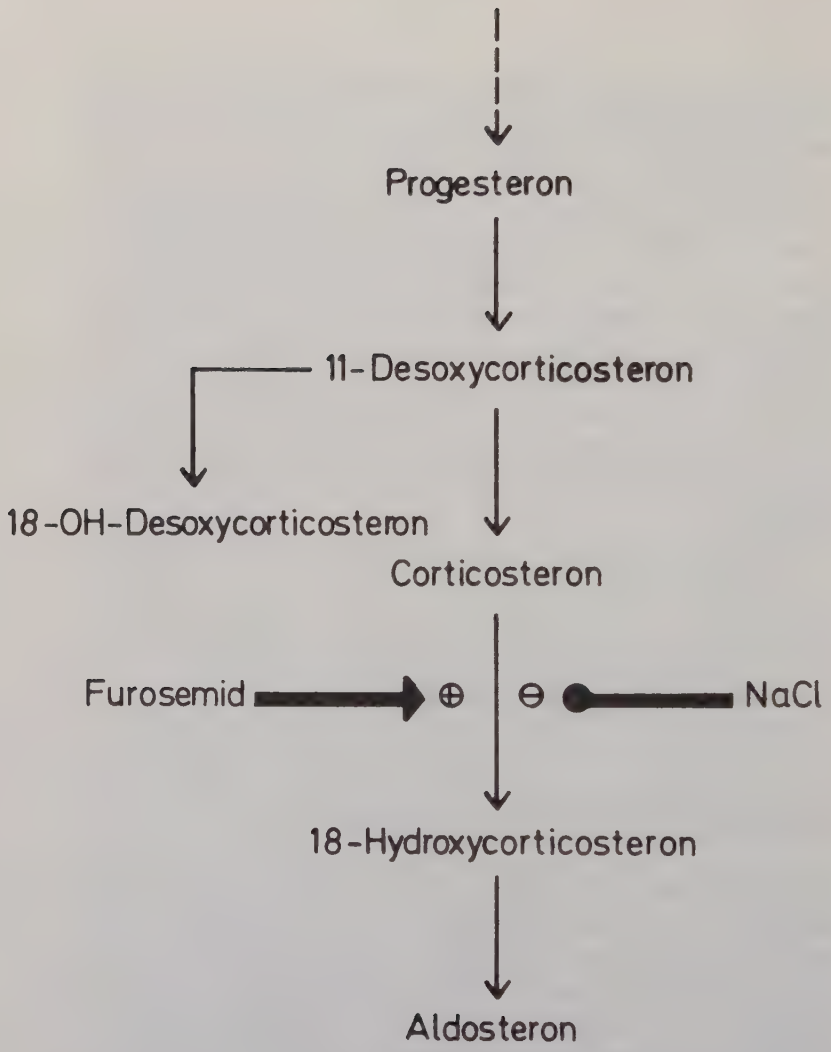


Abb. 22 : Die Auswirkungen auf die Biosynthese und Freisetzung der Steroide durch Furosemid i.v. (Stimulationseffekt) und NaCl-Infusion (Suppressionseffekt).

⊕

⊖

Die Plasmaspiegel des Aldosteron und 18-OH-Corticosteron zeigten eine strenge Parallelität. Die 18-OH-B-Konzentration lag durchschnittlich doppelt so hoch wie die des Aldosterons. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Sekretion der Mineralokortikoide bei Patienten mit LREH unmittelbar nach Furosemid gesteigert ist, obwohl die PRA unverändert bleibt. 18-Hydroxycorticosteron ist anscheinend für dieses Phänomen ein empfindlicherer Index als Aldosteron. Der genaue Wirkmechanismus ist noch unklar. Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Vorstellung, daß die Sensitivität der Glomerulosazellen bei LREH auf Stimulation durch Furosemid gesteigert ist.

b) Suppressionsversuch mit isotoner Kochsalzbelastung

Bei der Suppressionsstudie mit isotonischer Kochsalzlösung lag die basale Plasmareninaktivität bei essentiellen Hypertonikern durchschnittlich in allen Plasmaproben niedriger und ließ sich auch 1 Std. nach Infusion weniger supprimieren als bei Normalpersonen (Tab. 9). Im Vergleich beider Probandengruppen (NP und EH) findet sich aber weder für die absoluten Plasmawerte noch für den prozentualen Abfall unter Infusion von NaCl ein statistisch unterschiedliches Verhalten. Bei der gewählten Versuchsanordnung konnte kein differentes Verhalten der Plasmareninaktivität zwischen Normalpersonen und einer der Reninuntergruppen der essentiellen Hpyertoniker nachgewiesen werden (117).

Die Plasmaspiegel des Aldosteron und des 18-OH-Corticosteron ließen sich bei allen Probandengruppen 1 Std. nach Beginn und am Ende der Kochsalzbelastung supprimieren (Tab. 10) (Abb. 18, 19). Dieses Verhalten ließ sich sta-

tistisch sichern ($p < 0,01$). Die Plasmaspiegel von 18-OH-Desoxycorticosteron und Corticosteron nach 0,9 % NaCl-Infusion zeigten jedoch keinen signifikanten Abfall (Abb. 20, 21). (Tab. 11). Hierbei zeigte sich zwischen den essentiellen Normal-renin-Hypertonikern und essentiellen Low-renin-Hypertonikern nach Kochsalzbelastung kein signifikanter Unterschied. Der Abfall der Plasmaspiegel der Mineralokortikoide bei essentiellen Hypertonikern war nicht signifikant unterschiedlich im Vergleich mit den Normalpersonen.

Mit 1 g NaCl ist der tägliche Minimalbedarf des Menschen gedeckt. In den westlichen Industrienationen werden jedoch durchschnittlich 15 g pro Tag konsumiert (28, 46, 56, 79). Diese zivilisationsbedingte hohe Kochsalzaufnahme unter freier Diät der am Versuch beteiligten Probanden hat wahrscheinlich die untersuchten Hormonsysteme so weitgehend supprimiert, daß durch eine zusätzliche Natriumbelastung ein möglicher diskreter Unterschied im pathologischen Verhalten der Hormonsysteme nicht mehr sichtbar war (36, 61, 68).

H. ZUSAMMENFASSUNG

Das Verhalten der Plasmareninaktivität, des Aldosterons, des 18-Hydroxycorticosterons, des 18-Hydroxydesoxycorticosterons und des Corticosterons wurde nach Gabe von Furosemid (akuter Natrium- und Volumenentzug) und unter Suppressionsbedingungen durch Zufuhr von isotoner Kochsalzlösung an 20 Normalpersonen, 16 Patienten mit essentieller Normal-renin-Hypertonie und 12 Patienten mit essentieller Low-renin-Hypertonie untersucht.

Bei dem Stimulationsversuch zeigten die Normalpersonen 15 min nach Furosemid einen Anstieg der PRA von 0,8 $\pm$ 0,4 ng AI/ml.min (SD) auf 3,4 $\pm$ 1,4 ($p < 0,01$), des Plasmaaldosterons von 109 $\pm$ 28 pg/ml auf 139 $\pm$ 40 ($p < 0,01$) und des 18-Hydroxycorticosteron von 199 $\pm$ 90 pg/ml auf 279 $\pm$ 85 ($p < 0,01$). Bei Patienten mit essentieller Normal-renin-Hypertonie stieg PRA signifikant geringer an ($p < 0,01$). Dementsprechend wurde kein signifikanter Anstieg des Plasmaldosterons und des 18-OH-B gefunden. Bei Patienten mit LREH blieb die PRA (basal 0,2 $\pm$ 0,1) 15 min nach Furosemid praktisch unverändert. Das Plasmaaldosteron jedoch stieg von 111 $\pm$ 37 auf 160 $\pm$ 66 ($p < 0,05$) und das 18-OH-B von 162 $\pm$ 101 auf 261 $\pm$ 71 ($p < 0,01$). Der relative Anstieg des 18-OH-B bei Patienten mit LREH war im Vergleich zu Patienten mit NREH sogar noch signifikant höher. Die 18-OH-DOC-und Corticosteron-Plasmaspiegel zeigten zwischen den untersuchten Gruppen kein differentes Verhalten, es fand sich erst 120 min nach Furosemid in Kombination mit aktiver Orthostase ein signifikanter Anstieg. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß die Sekretion der Mineralokortikoide bei Patienten mit LREH unmittelbar nach Furosemid i.v. gesteigert ist, obwohl die PRA unverändert bleibt. 18-Hydroxycorticosteron ist

anscheinend für dieses Phänomen ein empfindlicherer Index als Aldosteron.

Bei dem Suppressionsversuch unter NaCl-Belastung (2 l 0,9 % NaCl in 4 Std.) fiel die PRA bei Normalpersonen von 0,8 ± 0,2 (P0) auf 0,5 ± 0,1 (P1) ($p < 0,02$) und 0,3 ± 0,1 ng/ml/h ($p < 0,001$), bei essentiellen Hypertonikern von 0,6 ± 0,4 (P0) auf 0,5 ± 0,3 (P1) und 0,3 ± 0,2 (P2) ng/ml/h ab ($p < 0,05$). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen essentiellen Hypertonikern und Normalpersonen ergab sich jedoch nicht. Das Plasmaaldosteron verminderte sich nach Kochsalzinfusion bei Normalpersonen von 99 ± 41 auf 61 ± 35 pg/ml. Dieser Abfall ließ sich statistisch sichern ($p < 0,01$), ebenso wie der Abfall der Plasmaaldosteronspiegel bei essentiellen Normal-renin-Hypertonikern ($p < 0,01$) und essentiellen Low-renin-Hypertonikern ($p < 0,01$). Ein paralleler Abfall der Plasmaspiegel des 18-Hydroxycorticosteron im Vergleich zum Aldosteron war bei allen Probanden zu verzeichnen. Die 18-OH-DOC und Corticosteron-Plasmaspiegel zeigten zwischen den untersuchten Gruppen kein signifikant differentes Verhalten. Bei dem Suppressionsversuch mit NaCl war wegen der zivilisationsbedingten hohen Kochsalzaufnahme ein möglicher diskreter Unterschied im pathophysiologischen Verhalten der Hormonsysteme nicht mehr sichtbar.

Es wird ein Radioimmunoassay beschrieben, mit dem die genannten Steroide simultan aus 1 ml Plasma bestimmt werden können. Gegen alle Steroide konnten hoch sensitive und spezifische Antiseren erzeugt werden. Die Präzision und Richtigkeit der Methode sind vergleichbar mit Radioimmunoassays, in denen nur ein Steroid bestimmt wird. Die Kriterien für Radioiummunoassay wurden anhand der Genauigkeit, der Richtigkeit und der Sensitivität der Methode geprüft. Die Methode zeichnet sich durch Blankfrei-

heit über den gesamten Eichkurvenbereich sowie gute Reproduzierbarkeit der Eichkurve aus, so daß sie für die klinische Routine ein brauchbares Bestimmungsverfahren darstellt.

I. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abraham, G.E.: Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17-β.
J. Clin. Endocr. 29, 866-870 (1969).

2. Addison, T.: On the constitutional and local effects of the suprarenal capsules.
D. Highley, London Reprinted in Medical Critics, 2, 224 (1855).

3. Aguilera, G., Catt, K.J.: Loci of action of regulators of aldosterone biosynthesis in isolated glomerulosa cells.
Endocrinology, 104, 1046-1052 (1979).

4. Aguilera, G., Fujita, K., Catt, J.J.: Mechanism of inhibition of aldosterone secretion by adrenocorticotropin.
J. Endrcrinology 108, 522-528 (1981).

5. Aikawa, T., Hirose, T., Matsumoto, I., Suzuki, T.: Secretion of aldosterone in response to histamine in hypophysectiomized & nephrectomized dogs.
J. Endocrinol. 81, 325-330 (1979).

6. Aragones, A., Gros, E.G., Lantos, C.P., Locascio, G.A.:
J. Steroid Biochem. 9, 175-180 (1978).

7. Anderson, N.S., Fonestil, D.D.: Biology of mineralocorticoid receptors.
In: O'Mally, B.W., Birnbaumer, L. (Eds), Receptors and Hormone Action Academic Press, New York p. 323 (1978).

8. Ayres, P.J., Barlow, J., Garrod, J., Kellie, A.E., Tait, J.F., Walker, G.: The metabolism of 16-H^3 aldosterone in man. In: An international symposium of aldosterone 73-96. Eds. Müller, A.F., O'Conner, C.M., London, Churchill Ltd.

9. Beaghlehole, R., Salmond, C.E., Prior, L.A.M.: Blood pressure studies in polynesian children. In: Epidemiology and control of hypertension. O. Paul (ed) S. 407,New York, London: Stratton (1975).

10. Berson, S.A., Yalow, R.S.: General Principles of radioimmunoassay. Clin. Chim. Acta 22 (1968).

11. Biglieri, E.G., Schambelan, M.: The significance of elevated levels of plasma 18-hydroxycorticosterone in patients with primary aldosteronism. J. Clin. Endocr. Metab. 49, 87-91 (1979).

12. Biron, P., Mongeau, J.G., Bertrand, D.: Familial aggregation of blood pressure in 558 adopted children. Canad Med. Ass. J. 115 (773-778 (1976).

13. Blair-West, F.R., Coghlan, J.P., Denton, D.A., Goding, J.R., Windour, M., Wright, R.D.: The control of aldosterone secretion. Recent Prog. Hor. Res. 19 (1963).

14. Brown, R.D.: Aldosterone metabolic clearence is normal in low-renin-essential hypertension. J. Clin. Endocr. Metab., 42, 661-666 (1976).

15. Bock, K.D.: Prophylaxe, Früherkennung und Frühbehandlung der Hypertonie. In: Aktuelle Hypertonieprobleme. Losse, H., Heintz, R. (Hrsg.), Stuttgart Thieme (1973).

16. Carey, R.M., Thorner, M.O., Ortt, E.M.: Effects of metoclopramide and bromcriptine on the reninangiotensin aldosterone system in man: dopaminergic control of aldosterone. J. Clin. Ivest: 63: 727.735 (1979).

17. Carey, R.M., Thorner, M.O., Ortt, E.M.: Dopaminergic inhibition of metoclopramide-induced aldosterone secretion in man. J. Clin. Invest 66: 20-21 (1979).

18. Carpenter, C.J., Davies, J.O., Ayers, C.R.: Relation of renin, angiotensin II and experimental renal hypertension to aldosterone secretion. J. Clin. Invest. 40)1961).

19. Castro, A., Bartos, D., Jelen, B., Kutas, M.: Steroids 22, 851-858 (1973).

20. Chiang, B.N., Perlman, L.V., Epstein, F.H.: Overweight and hypertension - a review. Circulation 34, 403 (1969).

21. Coghlan, J.P., Blair-West, J.R., Denton, D.A., Fei, D.T., Feruley, R.T., Hardy, K.J., McDougall, J.G., Puy, R., Robinson, P.M., Scoggins, B.A., Wright, R.D.: Control of aldosterone secretion. J. Endocrinol. 81, 55-67 (1979).

22. Colby, H.D.: Mechanism of action of prolactin on adrenocortical steroid secretion in hypophysectomized female rats. J. Endocrinol. 104, 1299-1303 (1979).

23. Conn, J.W.: Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. J. Lab. Clin. Med. 45, 3-17 (1955).

24. Crabbé, J.: Stimulation of active sodium transport by the isolated toad bladder with aldosterone, in vitro. J. Clin. Invest. 40, 3103-2100 (1961).

25. Crabbé, J., deWeer, P.: Action of aldosterone and vasopressin on active transport of sodium by the isolated toad bladder. J. Physiol. 180, 560-568 (1965).

26. Davies, J.O., Hartroft, P.M., Titus, E.O., Carpenter, C.C.J., Ayers, C.R., Spiegel, H.E.: The role of the renin-angiotensin system in the control of aldosterone secretion. J. Clin. Invest 41, 378-389 (1962).

27. Dluhy, R.G., Axelford, L., Underwood, R.H., Williams, G.H.: Studies of the control of plasma aldosterone concentration in normal man. Effect of potassium and acute potassium infusion. J. Clin. Invest. 51, 1950 (1972).

28. Dole, V.P., Dahl, L.K., Cotzials, G.C., Eder, H.A., Krebs, M.: Dietary treatment of hypertension. Clinical and metabolic studies of patients on the ricefruit diet. Clin. Invest. 29, 1189-1206 (1950).

29. Edelman, I.S., Bogoroch, R., Porter, G.A.: On the mechanism of action of aldosterone on sodium transport: the role of protein synthesis. Proc. Natl. Acad. Sci 50, 1169-1177 (1963).

30. Edelman, I.S., Marver, D.: Mediating events in the action of aldosterone. J. Steroid Biochem. 12, 219-224 (1980).

31. Edwards, C.R.W., Miall, P.A., Hanker, J.P., Thorner, M.O., Al-Dujaili, E.A.S., Besser, G.M.: Action of the plasma aldosterone response to furosemide by bromocriptine. The Lancet ii: 903-908 (1975).

32. Edwards, C.R.W., Al-Dujaili, E.A.S., Boscaro, M., Quyyumi, S., Miall, P.A., Rees, L.H.: In vivo and in vitro studies on the effect of metoclopramide on aldosterone secretion. Clin. Endocrinol. 13, 45-50 (1980).

33. Epstein, F.H.: Die Epidemiologie der Hypertonie. Der Prakt. Arzt 13, 1684 (1976).

34. Epstein, F.H.: Epidemiologie des Hochdrucks. Hoher Blutdruck, Eine aktuelle Bestandsaufnahme, Springer Verlag (1979).

35. Erlanger, B.F., Borek, F., Beiser, S.M., Liebermann, S.: Steroid-protein conjugates I. Preparation and characterisation of conjugates of bovine serum albumin with testosterone and cortisone. J. Biol. Chem. 228 (1957).

36. Espiner, E.A., Tucci, J.R., Jagger, P.I., Lauler, D.P.: Effect of saline Infusions on Aldosterone Secretion and Electrolyte Excretion in Normal Subjects and Patients with Primary Aldosteronism. New. Engl. J. Med. 227, 713 (1957).

37. Farese, R.V., Sabir, M.A., Larson, R.E.: Potassium and angiotensin II increase the concentration of phosphatic acid, phosphatidylinositol and polyphosphoinositides in rat adrenal capsules in vitro. J. Clin. Invest. 66: 1428-1431 (1980).

38. Feldman, D., Funder, J.W., Edelman, I.S.: Subcellular mechanism in the action of adrenal steroids. Am. J. Med. 53, 545-560 (1972).

38a. Fimoguari, G.M., Porter, G.A., Edelman, I.S.: The role of the tricarboxylic acid cycle in the action of aldosterone on sodium transport. Biochem. Biophys. Acta. 135, 89-99 (1967).

39. Fraser, R.; Lantos, C.P.: 18-hydroxycorticosterone: a review. J. Steroid Biochem. 9, 273-286 (1978).

40. Fraser, R.: The influence of sodium status and of ACTH of the effect of angiotensin II on plasma. Corticosteroid concentrations in man: Some implications in the control of corticosteroid biosynthesis. The endocrine function of the human adrenal cortex. Abstracts Florence (1977).

41. Gerber, J.G., Nies, A.S.: Interaction between furosemide induced renal vasodilatation and the prostaglandinsystem. Prostaglandins and Medicine 6, 135-145 (1981).

42. Giebisch, G., Stanton, B.: Potassium transport in the nephron. Ann Rev. Physiol. 14, 241-256 (1979).

43. Goodman, D.B.P.: The role of lipid metabolism in the response of the toad urinary bladder to aldosterone. Ann. NY acad Sci. 372, 30-38 (1981).

44. Goodman, D.B.P., Allen, J.E., Radmussen, H.: On the mechanism of action of aldosterone. Proc. Natl. Acad. Sci. 64, 330-337 (1969).

45. Gotzen, R.: Rationelle Diagnostik bei arterieller Hypertonie. Hoher Blutdruck, Eine aktuelle Bestandsaufnahme, Springer 1979.

46. Grollman, A., Harrison, T.R., Mason, M.F., Baxter, J., Crampton, J., Reichsman, F.: Sodium restriction in the diet for hypertension. J. Am. Med. Assoc., 129, 533-537 (1945).

47. Gross, J.B., Irani, M., Kokko, J.P.: A functional comparison of the cortical collecting tubule and the distal convoluted tubule. J. Clin. Invest. 55, 1284-1294 (1975).

48. Gross, F.: Übersichten. Renin und Hypertension. Physiologische oder Pathologische Wirkstoffe. Klin. Wschr. 36, 693-796 (1958).

49. Gross, F.: The renin-angiotensinsystem and hypertension. Ann. Intern. Med. 75, 777-787 (1971).

50. Guyton, A.C., Young, D.B., DeClue, J.W., Trippodo, N.C., Hall, J.E.: Fluid balance, renal function and blood pressure. Clinical Nephrology 1975.

51. Haber, E., Koerrer, T., Page, L.B., Kliman, B., Puroude, A.: Application of radioimmunoassay for Angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. J. Clin. Endocrinol. Metab. 29 (1969).

52. Haning, R., Tait, S.A.S., Tait, J.F.: In vitro effects of ACTH, angiotensin, serotonin and potassium on steroid output and conversion of corticosterone to aldosterone by isolated adrenal cells. Endocrinology 87, 1147-1167 (1970).

53. Hepp, R., Grilled, C., Peytremann, A.. Vallotton, M.B.: Stimulation of corticosteroid biosynthesis by angiotensin I, (des-asp) angiotensin I, angiotensin II (des-asp)-angiotensin II in bovine adrenal fasciculata cells. J. Endocrinol. 101, 717-725 (1976).

54. Hesse, B., Nielsen, I.: Unimpeded Plasma renin Increase after intravenous Furosemide during Saline Replacement. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36, 23-28 (1976).

55. Hierholzer, W., Lange, S.: The effects of adrenal steroids on renal function. MTP International Review of Science, Kidney and Urinary Tract Physiology, ed. K. Thurau 6, 273-334 (1974).

56. Hollenberg, N.K., Solomon, H.S., Adams, D.F., Abram, H.L., Merill, J.P.: Renal vascular responses to angiotensin and norepinephrine in normal man. Circ. Res. 31, 750-754 (1972).

57. Hornung, J., Gless, K.H., Abdelhamid, S., Vielhauer, W., Vecsei, P.: Clin. Chim. Acta 87, 181-188 (1978).

58. Imbs, J.L., Schmidt, M., Velly, J., Schwartz, J.: Comparison of the effect of two groups of diuretics on renin secretion in the anaestetized dog. Clin. Science & Molecular Med. 52, 171-182 (1977).

59. Johnson, B.C., Epstein, F.H., Kjelsberg, M.O.: Distributions and familial studies of blood pressure and serum Cholesterol levels in a total community-Tecumseh, Michigan. J. chronic. Dis. 18. 147 (1965).

60. Kaplan, N., Bertter, F.C.: The effect of ACTH, renin, angiotensin II and various precursors on biosynthesis of aldosterone by adranal slices. J. Clin. Invest 41 (1962).

61. Kem, C.C., Weinberger, M.H., Mayes, D.M., Nugent, C.A.: Saline Suppression of Plasma Aldosterone in Hypertension. Arch. Intern. Med. 128, 380 (1971).

62. Kinne, R., Kirsten, R.: Der Einfluß von Aldosteron auf die Aktivität mitochondrialer und cytoplasmatischer Enzyme in der Rattenniere. Pflügers Archiv 300, 244-245 (1968).

63. Kirsten, E., Kirsten, R., Leaf, A., Sharp, G.W.G.: Increased activity of enzymes of the tricarboxylic acid cycle in response to aldosterone in the toad bladder. Pflügers Archiv 300, 213-225 (1968).

64. Kirsten, R., Nelson, K., Rüschendorf, U., Seger, W., Scholz, Th., Kirsten, E.: Effects of aldosterone on lipid metabolism and renal oxygen consumption in the rat. Pflügers Archiv 368, 189-194 (1977).

65. Lapetina, E.G., Billah, M.M., Cuatrecasas, P.: The phosphatidylinositol cycle and the regulation of arachidonic acid production. Nature 292, 367-369 (1981).

66. Laragh, J.H., Stoerk, H.C.: A study of the mechanism of secretion of the sodium-retaining hormone (aldosterone). J. Clin. Invest. 36, 383-389 (1957).

67. Lauer, R.M., Connor, W.E., Leaverton, P.E., Reiter, M.A., Clarke, W.R.: Coronary heart disease risk factors in schoolchildren: The Muscatine study. J. Pediatr. 86, 697 (1975).

68. Lauler, D.P., Pauk, G.W., Vagnucci, A.I., Thorn, G.W.: Stimulation and Suppression Testing of Aldosterone Secretion in Man. J. Clin. Invest. 44, 1065 (1965).

69. Lohmann, F.W.: Praxis der medikamentösen Hochdrucktherapie: Hoher Blutdruck, Eine aktuelle Bestandsaufnahme. Springer Verlag (1979).

70. Lohmann, F.W.: Die arterielle Hypertonie als Risikofaktor kardiovaskulärer Erkrankungen. In: Hypertonie-Risikofaktor in der Angiologie. Zeitler, E. (Hrsg.) Baden-Baden, Brüssel, Köln, Witzstrock (1976).

71. Lommer, D., Berndt, A., Distler, A., Müller, B., Philipp, I., Wolff, H.P.: Sekretion, Verteilung und Abbau von Aldosteron bei verschiedenen Hochdruckformen. Klin. Wschr. 50, 1037-1042 (1972).

72. Martin, V.J., Edwards, C.R.W., Biglieri, E.G., Vinson, G.P., Bartler, F.C.: Steroids 26, 591-604 (1975).

73. Marusic, E.T., Malrow, P.J.: Stimulation of aldosterone biosynthesis in adrenal mitochondria by sodium depletion. J. Clin. Invest. 43, 2101-2108 (1967).

74. Marx, J.L.: Stress: role in hypertension debated. Science 198, 905 (1977).

75. Mason, P.A., Fraser, R.: J. Endocrinol. 64, 277-288 (1975).

76. Matulich, D.T., Spindler, B.J., Schabelan, M., Baxter, J.D.: Mineralocorticoid receptors in human kidney. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43, 1170-1174 (1976).

77. Mayes, D., Furuyama, S., Kem, D.C., Nugent, C.A.: A Radioimmunoassay for Plasma-Aldosterone. J. Clin. Endocrinol. 30, 682 (1970).

78. Mc Caa, R.E., Bower, J.D., Mc Caa, C.S.: Relative influence of acute sodium and volume depletion on aldosterone secretion in nephrectomized man. Cir. Res. 33, 555-562 (1973).

79. McGregor, G., Markandu, N.D., Best, F.E., Elder, D.M., Cam, J.M., Sagnella, G., Squires, M.: Double-blind randomised crossover trial of moderate sodium restriction in essential hypertension. The Lancet, 8268, 351-355 (1982).

80. McKenna, T.J., Island, D.P., Nicolson, W.E., Liddle, G.W.: Angiotensin stimulates both early and late steps in aldosterone biosynthesis in isolated bovine glomerulosa cells. J. Steroid Biochem. 9, 967-972 (1978).

81. McKenna, T.H., Island, D.P., Nicolson, W.E., Liddle, G.W.: Dopamine inhibits angiotensin-stimulated aldosterone biosynthesis in bovine adrenal cells. J. Clin. Invest. 64, 287-291 (1979).

82. Meneely, G.R., Ball, C.O.T.: Experimental epidemiology of chronic sodium chloride toxicity and the protective effect of potassium chloride. Am. J. Med. 25, 713-725 (1958).

83. Meyer, W.J., Nichols, N.R.: Mineralocorticoid binding in cultured smooth muscle cells and fibroblasts from rat aorta. J. Steroid Biochem. 14, 1157-1168 (1981).

84. Midgley, A.R., Niswender, G.D.: Radioimmunoassay of aldosterone. Acta endocrinol. K'havn., Suppl. 147, 320-331 (1970).

85. Miya, O.S., Furusho, T.: Genetic study of essential hypertension. Japanese Circulation Journal, 42, 1161-1186 (1978).

86. Neher, R.: Aldosterone. Chemical aspects and related enzymology. J. Endocrinol. 81, 25-35 (1979).

87. Nisonoff, A., Pressman, D.: J. Immunol. 80, 417-423 (1957).

88. Oelkers, W., Brown, J.J., Fraser, R., Lever, A.F., Morton, J.J., Robertson, J.J.S.: Sensitization of the adrenal cortex to angiotensin II in sodium-deplete man. Circ. Res. 34, 69 (1974).

89. Pooling project research group: Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: Final report of the pooling project. J. Chronic Dis. 31, 201 (1978).

90. Racz., K., Varga, I., Glaz, E., Kiss, R., Vida, S., Lada, G., Di Gleria, K., Medzihradzky, K., Lichtwald, K., Vecsei, P.: Met-enkephalin inhibits mineralocorticoid production in isolated human aldosteronoma cells. J. Clin. Endocri. Metab. 54, 656-660 (1982).

91. Raith, L.: Einführung in radioimmunologische Methodik. Byk-Malinckrodt Radiopharmazeutika-Diagnostika (1975).

92. Reader, R.: Nine therapeutic trials in mild hypertension. In: Hypertension and stroke control in the community. Hatano, S., Shigematsu, I., Strasser, T. (Eds.), P. 258, Geneva. World Health Organisation (1976).

93. Richardson, K.S.C., Nowaczynski, W., Genest, J.: Specific aldosterone-binding proteins in human plasma: Parti Characterisation. J. Steroid Biochem. 8, 951-957 (1977).

94. Rovner, D.R., Conn, J.W., Cohen, E.L., Berlinger, F.G., Kem, D.C., Gordon, D.: 17α-hydroxylase deficiency. A combination of hydroxylation defect and reversible blockade in aldosterone biosynthesis. Acta Endocrinol. 90, 490-504 (1979).

95. Roy, A.K., Ramierez, L.C., Ulick, S.: J. Steroid Biochem. 7, 81-87 (1976).

96. Sancho, D., Haber, E.: J. Clin. Endocrinol. Metab 47, 391-399 (1978).

97. Saruta, J., Kaplan, N.M.: J. Clin. Invest. 51, 2246-2251 (1972).

98. Scatchard, G.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 51, 660-669 (1949).

99. Schulster, D., Tait, S.A.S., Tait, J.F., Mrotek, J.: Production of steroids by in vitro superfusion of endocrine tissue. III. Corticosterone output from rat adrenals stimulated by adrenocorticotropin or cycle 3′,5′-adenosine monophosphate and the inhibitory effect of cycloheximide. J. Endocrinol. 86, 487-502 (1970).

100. Schöneshöfer, M.: J. Steroid Biochem. 8, 995-1009 (1977).

101. Semple, P.F., Mason, P.A., Fraser, R.: Increased 18-hydroxycorticosterone responses to furosemide in essential hypertension. Clin. Endocrinol. 12, 473-481 (1980).

102. Sen, S., Shainoff, J.R., Bravo, E.L., Bumpus, F.M.: Isolation of aldosterone-stimulating factor (ASF) and its effect on rat adrenal glomerulosa cells in vitro. Hypertension 3, 3-10 (1981).

103. Simpson, S.A., Tait, A.J., Wettstein, A., Neher, R., v. Enw, J., Rechstein, T.: Isolierung eines neuen kristallisierten Hormones aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel. Experientia 9, 33 (1953).

104. Simpson, S.A., Tait, J.F., Wettstein, A. Neher, R., von Euw, J., Schindler, O., Reichstein, T.: Konstitution des Aldosterons des neuen Mineralokortikoids. Experientia 10, 132-133 (1954).

105. Slater, J.D.H., Barbon, B.H., Henderson, H.H., Caspar, A. G.T., Bartter, F.C.: Influence of the pituitary and the renin-angiotensin-system on the secretion of aldosterone, cortisol and corticosterone. J. Clin. Invest. 42 (1963).

106. Stamler, J., Stamler, R., Riedlinger, W.F., Algers, G., Roberts, R.H.: Hypertension screening of 1 Million americans.

107. Sternitzke, N.: Physiologie und Pathophysiologie der Hypertonie. Zeitschrift für Allgemeinmedizin, p 1335 (1981).

108. St. Cyr, M.J., Sancho, J.M., Melby, J.C.: Quantitation of Plasma Aldosterone by Radioimmunoassay. Clin. Chem. 18, 1395 (1972).

109. Sounders, J.B., Beevers, D.G., Paton, A.: Alcohol-induced hypertension. The Lancet, II, 653-656 (1981).

110. Sulon, J., Palem-Vliers, M., Genard, P., Cittanova, N., Desfosses, B.: Clin. Chim. Acta. 72, 275-284 (1976).

111. Tait, J.F., Tait, S.A.S.: Recent perspectives on the history of the adrenal cortex. J. Endocrinol. 83, 1P-24P (1979).

112. Tait,J.F., Tait, S.A.S., Liddle, B., Laumas, K.P.: The disappearence of 7-H3-aldosterone in plasma of normal subjects. J. Clin. Invest. 40 (1961).

113. Tait, S.A.S., Tait, J.F., Bradley, J.E.S.: The effect of serotonin and potassium on corticosterone and aldosterone production by isolated zona glomerulosa cells of the rat adrenal cortex. Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 50, 833 (1972).

114. Tait, S.A.S., Schulster, D., Okamoto, M., Flood, C., Tait, J.F.: Production of steroids by in vitro superfusion of endocrine tissue. II. Steroid output from bisected whole, capsular and decapsulated adrenals of normal intact, hypophysectomized and hypophysectomized nephrectomized rats as a function of time of superfusion. J. Endrocrinol. 86, 360-382 (1970).

115. Thomas, C.B.: The psychological dimensions of hypertension. In: The epidemiology of hypertension. Stamler, J., Stamler, R. (Eds.), New York: Grune & Stratton (1967).

116. Tuck, M.L., Sowers, J.R., Asp, N.D., Viosca, S.P., Berg, G., Mayes, D.M.: Mineralocorticoid responses to low dose adrenocorticotropin infusion. J. Clin. Endocrinol. Metab. 52, 440-446 (1981).

117. Tuck, M.L., Williams, G.H., Moore, T.J., Greenfield, M., Dluhy, R.G.: A delayed suppression of the renin-aldosterone axis following saline infusion in human hypertension. Circ. Res. 39, 711-717 (1976).

118. Ulick, S., Nicolis, G.L., Vetter, K.K.: 18-hydroxycorticosterone to aldosterone. In: Aldosterone (ed) Boulien EG, Rober, P., Blackwell Oxford, 67-78 (1964).

119. Ulick, W., Vetter, K.K.: Identification of two C 18 oxygenated corticosteroids isolated from human urine. J. Biol. Chem. 237, 3364-3369 (1962).

120. Vecsei, P., Gless, K.H.: Aldosteron-Radioimmunoassay. Grundlagen - Durchführung - Anwendung. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1975).

121. Vecsei, P., Gless, K.H., Winter, M., Hanka-Posztozky, M.: "In Vivo Radioimmunoassay" of Aldosterone. Acta. Endocrinol. (kbh) 74, 307 (1973).

122. Vecsei, P., Penke, B., Joumach, A.: Experientia 28, 622-628 (1972).

123. Veterans Administration Cooperative Study Group on Antihypertensive Agents: Effects of treatment on morbidity in hypertension. J. Am. Med. Ass. 202, 116 (1967) and 213, 1143 (1970).

124. Vinson, G.P., Whitehouse, B.J., Dell, A., Chenne, T., Morris, H.R.: Characterisation of an adrenal zona glomerulosa-stimulating component of posterior pituitary extracts a α-MSH. Nature 284, 464-467 (1980).

125. Washburn, D.D., Kem, D.C., Orth, D.N., Nicolson, W.E., Chretien, M., Mount, C.D.: Effect of β-Lipotropin on aldosterone production in the isolated rat adrenal cell preparation. J. Clin. Endocrinol. Metab. 54, 613-618 (1982).

126. Weber, P.C., Scherer, B., Larsson, C.: Increase of free arachidonic acid by furosemide in man as the cause of prostaglandin and renin release. European J. Pharmacol. 41, 329-332 (1977).

127. Weber, P.C., Scherer, B.: Genetische Disposition als erster Schritt der Hochdruckentstehung. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 86. Band, J.F. Bergmann Verlag, München (1980).

128. Williamson, H.E.: Mechanism of the antinatriuretic action of aldosterone. Biochem. Pharmacol. 12, 1449-1450 (1963).

129. Wisgerhof, M., Brown, R.D.: Increased adrenal sensitivity to angiotensin II in low-renin essential hypertension. J. Clin. Invest. 61, 1456-1462 (1978).

130. Witzgall, H., Hassan-Ali, S.: A simultaneous radioimmunoassay for aldosterone and its precursors. Human plasma levels following converting-enzyme inhibition before and after blockade of prostaglandin biosynthesis. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 13, 387-394 (1981).

131. Witzgall, H., Hassan-Ali, S.: Paper chromatographic systems for the separation of aldosterone, 18-hydroxycorticosterone, 18-hydroxydeoxycorticosterone, corticosterone and deoxycorticosterone. J. Chromatography 198, 70-75 (1980).

132. Witzgall, H., Thayil, G., Weber, P.C.: Rapid Increase of Mineralocorticoids After Furosemide in Low-Renin-Essential Hypertension: Evidence for 18-Hydroxycorticosterone to be a Better Marker than Aldosterone. Klin. Wochenschr. 60, 847-852 (1982).

133. Yorio, T., Bentley, P.J.: Phospholipase A and the mechanism of action of aldosterone. Nature 271, 79-81 (1978).

134. Zipser, R.D., Speckart, P.F., Zia, P.K., Edmistou, W.A., Lau, F.Y.K., Horton, R.: The effect of ACTH and cortisol on aldosterone and cortisol clearence and distribution in plasma and whole blood. J. Clin. Endocrinol. Metab. 43, 1101-1109 (1976).

Mein Dank gilt

Herrn Prof. Dr. Peter C. Weber und Herrn Dr. Helmut Witzgall für die freundliche Überlassung des Themas sowie für ihre stetige Anteilnahme an der Arbeit und ihre Unterstützung, die sie mir und dieser Arbeit gewährten;

Herrn Prof. Dr. E. Buchborn und Herrn Prof. Dr. J. Eigler für die vielseitigen Arbeitsmöglichkeiten innerhalb der Nephrologischen Abteilung;

außerdem allen Mitarbeitern der Nephrologischen Abteilung für ihre ausgezeichnete Assistenz bei den Experimenten und Analysen.

LEBENSLAUF

Am 21. November 1951 wurde ich als Sohn des Bankiers Kurian Chacko Thayil und dessen Ehefrau Annamma, geborene Kappammoottil, in Alleppey, Kerala/Indien geboren.

Von 1956 bis 1963 besuchte ich die Volksschule in Kuruppanthara. 1963 trat ich an die 'Nirmala English High School' in Muvattupuzha über; dort legte ich 1966 die Reifeprüfung mit der Note "sehr gut" ab. 1966 begann ich mit dem 'Pre-Degree'-Studium am Deva Matha College in Kuravilangad, und anschließend mit dem 'Degree'-Studium am University College in Trivandrum. 1971 legte ich die Abschlußprüfung mit der Note "gut" ab und es wurde mir von der Universität Kerala der Grad eines "Bakkalaureus der Naturwissenschaften" (Bachelor of Science) zuerkannt.

Von 1972 bis 1974 arbeitete ich als Redakteur der indischen Zeitschrift 'Mangalam' und veröffentlichte Artikel und Kurzgeschichten in verschiedenen indischen Journalen.

Mein Medizinstudium begann ich im Jahr 1975 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Während meines klinischen Studiums arbeitete ich 3 Jahre als Doktorand an der Nephrologischen Abteilung der II. Medizinischen Klinik der Universität München. Anfang 1982 schloß ich mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen in München ab.

Seit Dezember 1981 bin ich mit der Ärztin Dr. Subha George Thayil M.B., B.S., geborene Palakunnel, verheiratet.